

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Ciencias Morfológicas I



TESIS DOCTORAL

**Influencia del aumento del flujo sanguíneo en la remodelación
del miocardio del embrión de ave: análisis a microscopia
electrónica de barrido**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Jorge Alfonso Murillo González

Director

Antonio Javier Puerta Fonollá

Madrid, 2002

ISBN: 978-84-669-0008-9

© Jorge Alfonso Murillo González, 1993

Jorge MURILLO GONZALEZ.

**INFLUENCIA DEL AUMENTO DEL FLUJO
SANGUINEO EN LA REMODELACION DEL
MIOCARDIO DEL EMBRION DE AVE:
ANALISIS A MICROSCOPIA ELECTRO-
NICA DE BARRIDO.**

Tesis Doctoral dirigida por el Profesor
Javier PUERTA FONOLLA, Catedrático de
Anatomía del Departamento de Ciencias
Morfológicas de la Facultad de Medicina
de la Universidad Complutense de
Madrid 1993



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

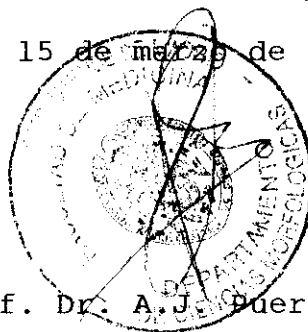
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS

M A D R I D

DON ANTONIO JAVIER PUERTA FONOLLA CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA
DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS DE LA FACULTAD
DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID:

CERTIFICA: Que D. JORGE ALFONSO MURILLO GONZALEZ, ha
realizado el trabajo de investigación ti-
tulado: "INFLUENCIA DEL AUMENTO DEL FLUJO
SANGUINEO EN LA REMODELACION DEL MIOCARDIO
DEL EMBRION DE AVE: ANALISIS A MICROSCOPIA
ELECTRONICA DE BARRIDO", bajo mi dirección,
estimando que SI reúne las condiciones
necesarias para ser presentado como Tesis
Doctoral.

Madrid, a 15 de marzo de 1993.



Fdo.: Prof. Dr. A. J. Puerta Fonollá.

CATEDRÁTICO DE ANATOMIA.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

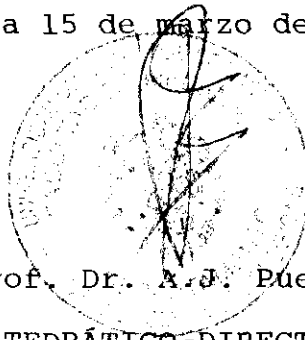
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS

M A D R I D

DON ANTONIO JAVIER PUERTA FONOLLA CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA Y
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS DE LA FACULTAD
DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID:

INFORMA: Que el trabajo titulado: "INFLUENCIA DEL AUMENTO
DEL FLUJO SANGUINEO EN LA REMODELACION DEL
MIOCARDIO DEL EMBRIÓN DE AVE: ANÁLISIS A MI-
CROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO", realizado por
D. JORGE ALFONSO MURILLO GONZALEZ reúne las
condiciones necesarias para ser presentado como
Tesis Doctoral.

Madrid, a 15 de marzo de 1993.



Fdo.: Prof. Dr. A.J. Puerta Fonollá.

CATEDRÁTICO-DIRECTOR DEPARTAMENTO.

A María, mi abuela, a Narciso y Maruja,
mis padres, a Mariquilla, Boli y Narci,
mis hermanos, como pequeña muestra de
gratitud por mi gran deuda con ellos.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	1
JUSTIFICACION.....	4
INTRODUCCION.....	10
I. DESARROLLO EMBRIOLOGICO DEL CORAZON DE POLLO.....	13
II. MECANISMOS RESPONSABLES DEL DESARROLLO CARDIACO:	
FACTORES HEMODINAMICOS.....	86
1.- Crecimiento celular diferencial.....	87
2.- Muerte celular.....	88
3.- Migración del tejido mesenquimal.....	92
4.- Matriz extracelular: Gelatina cardíaca.....	101
5.- Función hemodinámica.....	110
III. CARDIOPATIAS HIPERTROFICA Y DILATADA EN EL RECIEN	
NACIDO.....	118
MATERIAL Y METODOS.....	131
1.- CONTROLES DE MO.....	137
2.- CONTROLES DE MEB.....	138
3.- TESTIGOS DE TIRODE.....	143
4.- TESTIGOS DE HEPARINA.....	145
5.- EMBRIONES DONANTES.....	147
6.- EMBRIONES OPERADOS.....	149
7.- TESTIGOS CONTROL.....	152
TABLAS 1 A 17.....	153

RESULTADOS.....	177
I. CONTROLES DE MEB.....	182
II. TESTIGOS DE TIRODE.....	269
1.- Testigos de tirode intervenidos en el E 22 HH..	270
2.- Testigos de tirode intervenidos en el E 25 HH..	283
3.- Testigos de tirode intervenidos en el E 29 HH..	292
III. TESTIGOS DE HEPARINA.....	301
1.- Testigos de heparina intervenidos en el E 22 HH.....	302
2.- Testigos de heparina intervenidos en el E 25 HH.....	311
3.- Testigos de heparina intervenidos en el E 29 HH.....	317
IV. EMBRIONES OPERADOS.....	326
1.- Embriones operados en el E 22 HH: ↑ 7%.....	327
2.- Embriones operados en el E 22 HH: ↑ 15 %.....	336
3.- Embriones operados en el E 22 HH: ↑ 25%.....	341
4.- Embriones operados en el E 25 HH: ↑ 7%.....	348
5.- Embriones operados en el E 25 HH: ↑ 15%.....	357
6.- Embriones operados en el E 25 HH: ↑ 25%.....	371
7.- Embriones operados en el E 29 HH: ↑ 7%.....	376
8.- Embriones operados en el E 29 HH: ↑ 15%.....	387
9.- Embriones operados en el E 29 HH: ↑ 25%.....	394

	Página
DISCUSION.....	404
I. CONTROLES DE MEB.....	405
II. MORTALIDAD Y MALFORMACIONES.....	421
1.- Mortalidad.....	428
2.- Malformaciones morfológicas externas.....	433
a) Defectos de cierre de la pared ventral.....	439
b) Alteraciones del segmento caudal.....	440
c) Alteraciones del pico.....	441
d) Alteraciones oculares.....	443
e) Alteraciones de las extremidades.....	446
f) Alteraciones del sistema nervioso central..	447
3.- Malformaciones cardíacas.....	448
CONCLUSIONES.....	463
BIBLIOGRAFIA.....	472

AGRADECIMIENTOS

Quiero en primer lugar expresar mi más sincero agradecimiento a dos personalidades a quienes en última instancia se debe la realización de esta Tesis Doctoral, ya que despertaron mi interés por la Anatomía y la Embriología y me iniciaron en el cultivo de estas disciplinas.

A mi padre, el Profesor Narciso Murillo Ferrol, Catedrático de Anatomía de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, modelo a seguir tanto humano como profesionalmente por su rectitud, dedicación, constancia y buen hacer. A él debo gran parte de mis conocimientos, así como los buenos principios adquiridos.

Al Profesor Javier Puerta Fonollá, Catedrático de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Quiero agradecerle no sólo la dirección de esta Tesis Doctoral, para lo cual me orientó, supervisó, criticó y aconsejó, sino también su inestimable ayuda, su inagotable entusiasmo, su constante estímulo, su desinteresada aportación de tiempo y experiencia personal, su dedicación, su excepcional ejemplo como profesor y científico. Por todo ello muchas gracias, Don Javier.

En segundo lugar, quisiera dejar constancia de todas aquellas personas que directa o indirectamente han contribuido a la elaboración de esta Tesis Doctoral, a quienes hago extensible mi agradecimiento.

A la Profesora Julia Pérez de Miguelsanz, por el apoyo, comprensión y por los buenos consejos que me brindó al iniciar

este trabajo, sin los cuales, probablemente, no lo hubiera sacado adelante.

A mis compañeros de la I Cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense, quiero agradecerles el asesoramiento prestado en la realización de este trabajo, así como su constante apoyo. Desde aquí quiero animarles a que sigan trabajando sin perder el ánimo, con entusiasmo, que ya llegarán tiempos mejores.

Quiero agradecer de forma especial al Rectorado de la Universidad Complutense, así como a la Secretaría de Estado de Universidades e Investigación del Ministerio de Educación y Ciencia, las Becas que me han concedido, sin las cuales no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Sería imposible citar aquí a todos aquellos quienes, con su paciente apoyo y amistad, han constituido una ayuda y estímulo de valor inestimable a la hora de llevar a feliz término este trabajo. Sin embargo, quiero mencionar, por su relevante papel, a mi familia, a mis amigos del Colegio Mayor César Carlos, a mis amigos de Zaragoza, a Beatriz, al Profesor Xavier Dor, a los miembros del Departamento de Pediatría Cardiológica del "Strong Children's Medical Center". A todos ellos quiero hacer llegar mi más profundo y sincero agradecimiento.

Por último, quiero agradecer de forma especial a Susa su cariño, amistad y paciencia, así como sus constantes ánimos y buenos consejos. Por todo, gracias.

JUSTIFICACION

Desde 1981 el equipo de trabajo que dirige el Dr. A.J. Puerta Fonollá en la I Cátedra de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid se encuentra investigando sobre la influencia de los factores hemodinámicos en la morfogénesis cardíaca.

A mi llegada al equipo se encontraban en el siguiente punto.

Se habían planteado dos diseños experimentales, utilizando en ambos huevos fértiles de ave de la especie *Gallus gallus domesticus* pertenecientes a la raza Shaver Blanca.

El diseño I consistía en disminuir el flujo de entrada al corazón mediante la supresión del aporte venoso que llega al mismo a través de las venas vitelinas, mediante ligadura o sección de una de ellas.

El diseño II consistía en aumentar el flujo de entrada, mediante la perfusión a través de las venas vitelinas de una cantidad determinada de sangre de embrión de pollo.

Los resultados obtenidos se analizaron desde el punto de vista morfológico, dado que los estudios realizados hasta el momento sobre la influencia de los factores hemodinámicos en la morfogénesis cardíaca sólo reflejan datos fisiológicos.

En ambos diseños los embriones fueron reincubados entre 19 horas y 8 días tras la intervención y preparados según el proceder habitual para su estudio a MO siendo teñidos con hematosilina-eosina y AZAN.

Las malformaciones cardíacas afectaban al 38'98 % de los embriones supervivientes del diseño I y al 94'91 % de los embriones supervivientes del diseño II. Las malformaciones obtenidas afectaban a todas las zonas del corazón, así como a los derivados de los arcos aórticos, teniendo una incidencia

distinta según la técnica utilizada, el estadio de intervención, así como la vena empleada en la técnica.

Las malformaciones cardíacas más frecuentes fueron las obtenidas a nivel de la región ventricular, siendo de un 25'61 % sobre el total de malformaciones cardíacas en el diseño II, y de un 5'99 % en el diseño I.

En ambos casos las alteraciones ventriculares consistían en una fuerte modificación del patrón de trabeculización normal, con tres patrones distintos: 1) Corazones de paredes muy gruesas y con escasas trabéculas a modo de mamelones; 2) Corazones con paredes muy delgadas, con trabéculas de disposición paralela y de pequeño tamaño, con ausencia de ellas en determinadas zonas del ventrículo derecho; 3) Corazones de morfología mixta, con paredes de grosor irregular en las que observamos grandes trabéculas en la zona de pared engrosada, o pequeñas trabéculas paralelas en la zona de pared adelgazada.

Con la metodología utilizada hasta el momento, MO, no se constató ninguna alteración más, si bien la impresión subjetiva, en lo que se refiere a las trabéculas, es que su morfología se corresponde con la que presentan los corazones normales de un estadio menor (BENITEZ RUBIO, 1986; PÉREZ DE MIGUELSANZ, 1987; PUERTA y col., 1987; PÉREZ DE MIGUELSANZ y col., 1989).

Con el fin de profundizar en la génesis de estas alteraciones del miocardio se planteó repetir ambos diseños experimentales, procesando los corazones obtenidos para su estudio a microscopía electrónica tanto de transmisión (MET) como de barrido (MEB), así como su estudio con técnicas morfométricas.

En el momento actual tenemos los primeros resultados del

análisis a MET y MEB de los embriones sometidos a una disminución del flujo (TABORDA LOPEZ, 1990).

Son escasos los trabajos que analizan la morfogénesis miocárdica tras aumentar el flujo y, sobre todo, no hay ninguno que estudie el proceso de formación y distribución de las trabéculas tras modificaciones hemodinámicas.

Con este trabajo pretendemos comprender mejor las alteraciones en el desarrollo del miocardio y su importancia en las anomalías congénitas cardíacas.

Para ello utilizaremos la técnica ya normalizada en nuestro laboratorio (PÉREZ DE MIGUELSANZ 1987 y 1989), inyectando a través de una rama de la vena vitelina derecha tres volúmenes estándar diferentes (7, 15 y 25% del volumen total circulante) a embriones de los estadíos 22, 25 y 29 HH, siendo reincubados hasta el E 35 HH. Posteriormente llevaremos a cabo un estudio macroscópico de los corazones y un estudio microscópico a MEB.

El hecho de realizar el aumento de flujo a través de la vena vitelina derecha y no por la izquierda es debido a los resultados obtenidos por PÉREZ DE MIGUELSANZ (1987), en los que al actuar sobre la vena vitelina derecha obtiene una mayor incidencia de malformaciones cardíacas y una mayor tasa de supervivencia que al hacerlo sobre la vena vitelina izquierda.

La selección de los tres volúmenes inyectados, 7, 15 y 25%, se basó en un intento de estandarizar los volúmenes perfundidos por dicha autora.

Del mismo modo, el realizar la intervención en los estadíos 22, 25 y 29 HH se basa en que la misma autora obtiene el mayor número de malformaciones cardíacas localizadas a nivel

ventricular al aumentar el flujo en dichos estadios.

Dos de los aspectos más relevantes de este estudio son:

- Inyectando sangre de embrión de pollo tratamos de evitar la hipoxia, factor teratogénico adicional en las experiencias realizadas hasta la fecha sobre la influencia del aumento de flujo en la morfogénesis cardíaca en las que inyectan dextrano y solución Ringer (CLARK, 1984; WAGMAN y CLARK, 1985) .

- El aumento del flujo de entrada al corazón se realiza a través de un vaso situado a distancia del mismo, obviando así un factor teratogénico como es el actuar directamente sobre el corazón.

Lo primero que nos planteamos fue la obtención de una serie de embriones control comprendidos entre los estadios 17, momento en que se inicia el proceso de trabeculización, y 35 de HH, estadio de corazón maduro, para comprender mejor el proceso de septación y trabeculización ventricular, así como para poder comparar los embriones experimentales fijados en el E 35 HH con los controles del mismo estadio.

En el presente trabajo, al igual que en el diseño II (PÉREZ DE MIGUELSANZ, 1987), se ha utilizado heparina como anticoagulante de la sangre obtenida a partir de embriones donantes. Ante los datos existentes sobre el papel angiogénico de la heparina (FOLKMAN J, 1985; RIBATTI y col., 1987) nos planteamos descartar el posible papel teratogénico de las pequeñas cantidades empleadas por nosotros.

Ante la imposibilidad técnica de inyectar dichas cantidades, decidimos diluirlas en tirode.

Puesto que el tirode puede provocar una hemodilución y por consiguiente hipoxia, nos planteamos también el descartar el posible papel teratogénico de los 2'5 µl empleado como diluyente

de la heparina.

Así pues, podemos considerar cuatro grupos principales en el presente proyecto:

- Controles de MEB.
- Testigos de tirode.
- Testigos de heparina.
- Embriones operados.

INTRODUCCION

El conocimiento del desarrollo del corazón, así como el de su forma y función, ha preocupado al hombre desde sus inicios, por lo que ha sido objeto de numerosos estudios al igual que la etiopatogenia de las malformaciones cardíacas congénitas, que constituye el grupo de malformaciones congénitas más frecuente en la especie humana (ocurren aproximadamente en el 1% de todos los recién nacidos vivos - WILSON y col., 1991 -).

Para el estudio de la morfogénesis cardíaca se puede emplear:

- la embriología descriptiva: estudio de los cortes seriados de embriones humanos o de otras especies animales en los distintos estadios del desarrollo con el fin de establecer un estudio comparativo o, simplemente, descriptivo.

- la embriología experimental: que consiste en la micro-manipulación del corazón embrionario, generalmente de pollo, o en la utilización de agentes teratógenos durante el período crítico del corazón, tanto en cultivo *in ovo* como en cultivo *in vitro*.

El embrión de pollo es un modelo utilizado habitualmente para el estudio de la morfogénesis cardíaca durante los primeros momentos del desarrollo, puesto que es similar en los estadios precoces del desarrollo al de mamífero y su estudio experimental es relativamente fácil, pudiendo investigarse a lo largo de todo el desarrollo sin el inconveniente que suponen los huecos existentes en las colecciones de embriones humanos.

Aunque el estadio de cardiogénesis en el embrión de pollo no es necesariamente idéntico al del embrión humano, la mayoría

de los procesos descritos, sobre todo en las fases iniciales, pueden extrapolarse al embrión humano, y es probable que los mecanismos básicos del desarrollo a nivel celular sean similares si no idénticos. Únicamente una vez que se inicia la fase final del desarrollo del órgano se observan diferencias notables. Así, el corazón de ave, a diferencia del de mamífero, presenta: una válvula auriculoventricular derecha bivalva y muscular, ausencia de *septum secundum interatriale*, cayado aórtico derecho y *ductus arteriosus* bilateral.

En la primera parte de la introducción, analizaremos brevemente los aspectos más relevantes del desarrollo embrionario del corazón de pollo, haciendo hincapié en los temas que actualmente suscitan un mayor interés.

En una segunda parte, examinaremos los mecanismos responsables del desarrollo cardíaco en un intento de comprender la relación entre los factores etiológicos y las anomalías anatómicas. Prestaremos especial atención al papel que juegan los factores hemodinámicos.

En la tercera parte estudiaremos cómo el corazón es capaz de adaptarse a los cambios hemodinámicos tanto agudos como crónicos, así como las cardiopatías hipertrófica y dilatada del recién nacido.

I. DESARROLLO EMBRIOLOGICO DEL CORAZÓN DE POLLO.

A nivel del **disco embrionario** (zona donde se sitúa el núcleo y demás orgánulos citoplasmáticos del cigoto - yema del huevo -) se va a iniciar la **división meroblástica**. Esta región se conoce también como **área pellucida**, en contraste con la región marginal más oscura que queda adherida al vitelo denominada **área opaca**. Las primeras cuatro o cinco divisiones celulares se llevan a cabo con división completa del núcleo (carioquinesis), pero incompleta del citoplasma (citoquinesis). Así, el embrión primitivo está constituido por una célula multinucleada (sincitium).

La formación de los **blastómeros** se produce por el crecimiento de los pliegues membranosos situados entre los núcleos, limitándose así los elementos celulares. Estas células se van a ir separando del vitelo subyacente, apareciendo entre ambos la **cavidad subgerminal**. Las células que cubren directamente dicha cavidad son las **blastómeros centrales** que van a dar lugar a las estructuras embrionarias; mientras que las situadas más periféricamente son las **blastómeros marginales** que darán origen a parte de las membranas extraembrionarias.

Durante los últimos estadios de la división meroblástica las blastómeros centrales van a dar lugar a dos poblaciones celulares distintas por su tamaño (Fig. 1A), iniciándose la **etapa de blástula**. Las de mayor tamaño se van a disponer formando el techo de la cavidad subgerminal. Algunas de estas células de mayor tamaño van a converger en uno de los polos del disco embrionario, futuro polo caudal del embrión, lo que constituye el primer

evento asimétrico dentro del desarrollo embriológico (Fig. 1B y 1C).

Por un proceso de delaminación las células de mayor tamaño situadas más profundamente se separan de las pequeñas para ir a unirse con otras similares procedentes del acúmulo caudal. Se forma así una nueva capa, el **hipoblasto**, bajo el cual persiste la cavidad subgerminal. La población de células más pequeñas van a formar el **epiblasto**. Entre epiblasto e hipoblasto va a quedar una nueva cavidad, el **blastocelo** (Fig. 1D).

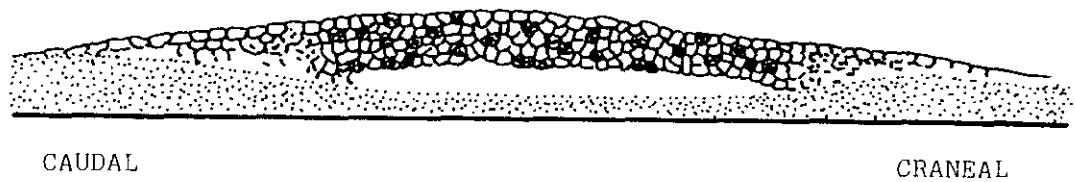
La **etapa de gástrula** se inicia en cuanto se ha formado el hipoblasto. Se va a producir un desplazamiento de las células del epiblasto hacia la línea media acumulándose en principio en la parte media caudal del disco embrionario (la expansión del epiblasto se realiza como consecuencia de un adelgazamiento de sus capas celulares). La progresiva convergencia de células en la línea media produce el alargamiento de la condensación caudal dando lugar a la formación de la **línea primitiva** (futuro eje longitudinal del embrión). Su extremo craneal se va a ensanchar dando lugar a la formación del **nudo primitivo** o **de Hensen**.

La línea primitiva está recorrida en toda su longitud por el denominado **surco primitivo**. A través de este surco van a abandonar el epiblasto células del mismo que alcanzan el hipoblasto obligando a las células de éste a desplazarse periféricamente. Estas nuevas células derivadas del epiblasto y que alcanzan el hipoblasto a través del surco primitivo formarán el **endodermo intraembrionario**, mientras que el hipoblasto original formará el **endodermo extraembrionario**.

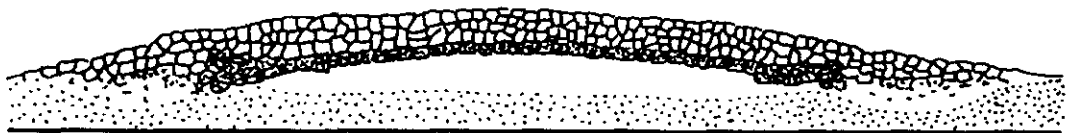
La mayor parte de las células que abandonan el epiblasto a través de la línea primitiva van a dar lugar a una población de

Figura 1. — Etapa de blástula. Las células punteadas representan a las blastómeras que se separan por delaminación del hipoblasto (Tomado de **NODEN y LAHUNTA, 1990**).

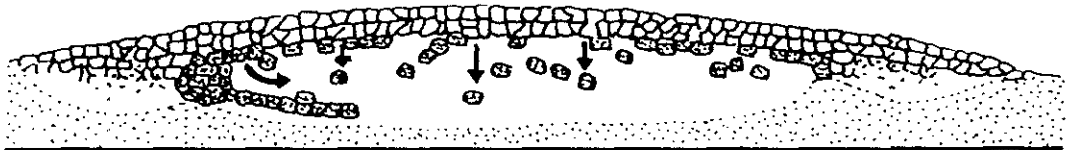
A BLASTULA PRIMITIVA



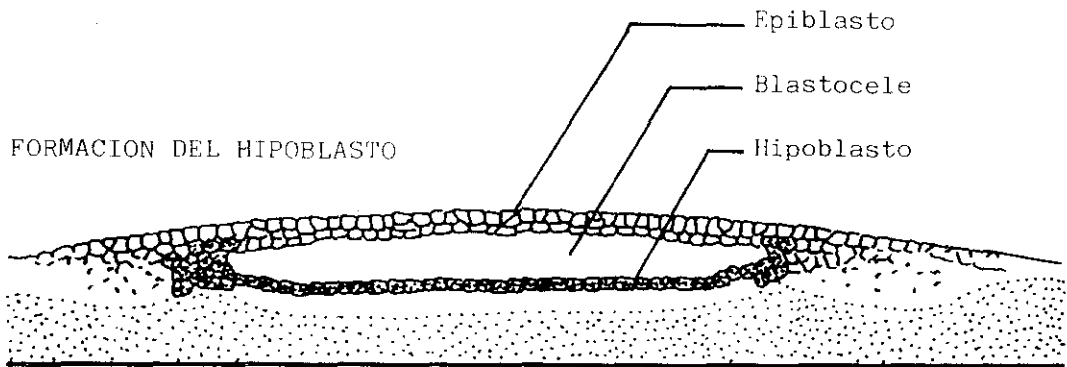
B SEGREGACION



C DELAMINACION



D FORMACION DEL HIPOBLASTO



células mesenquimales dispuestas entre epiblasto e hipoblasto, constituyéndose así el **mesodermo**.

Las células del epiblasto que no emigran y permanecen formando la hoja más superficial del embrión, constituyen el **ectodermo** (NODEN y LAHUNTA, 1990).

Una de las características del desarrollo cardíaco es la precocidad. El corazón es el primer órgano embrionario en diferenciarse funcionalmente.

Durante las etapas de blástula y gástrula, mediante estudios experimentales, se han establecido las zonas del epiblasto y del mesodermo que van a dar origen al corazón.

Así, en el momento en que empieza a formarse la línea primitiva pero aún no ha comenzado la migración para la formación del mesodermo, las células presuntivas cardíacas se encuentran en la mitad posterior del epiblasto, a ambos lados de la línea primitiva, como se ha podido comprobar mediante marcaje radioactivo (ROSENQUIST y DE HAAN, 1966); estas células se localizan en las zonas denominadas **preáreas cardíacas**. En este momento, el embrión posee gran capacidad de regulación y las células aún no están determinadas, de tal forma que si las células presuntivas cardíacas se trasplantasen a otra región del epiblasto, darían lugar al órgano correspondiente a su nueva ubicación y no al corazón. Del mismo modo, al transplantar injertos heterólogos de área no cardíaca a las preáreas cardíacas, el tejido introducido tiene la capacidad de diferenciarse en tejido cardíaco y el corazón se incurva normalmente (ORTS-LLORCA y JIMENEZ- COLLADO, 1969) .

En la etapa de gástrula, las células presuntivas cardíacas

se encuentran en el mesodermo, a ambos lados de la línea primitiva; estas zonas cardiogénicas ocupan una considerable área del mesodermo, con un gradiente de frecuencia, cuyo más alto nivel se encuentra a la altura del nódulo de Hensen y que han sido denominadas **áreas cardíacas**. Esto se ha podido determinar mediante el cultivo de injertos de diferentes porciones de la gástrula en membrana alantoidea, dando lugar a vesículas miocárdicas contráctiles (RAWLES, 1943). Durante la gástrula, las áreas cardíacas ya están determinadas para formar corazón y aún cuando fuesen cambiadas quirúrgicamente, seguirían dando lugar a tejido cardíaco; no obstante, éstas aún no han adquirido una determinación fija e irreversible en su polaridad. Esto último ha sido demostrado cambiando quirúrgicamente la orientación de las áreas cardíacas, desarrollándose un corazón normal, debido a la capacidad de regulación dinámica de los movimientos morfogenéticos, que posee el endodermo correspondiente a las áreas cardíacas (ORTS-LLORCA y JIMENEZ- COLLADO, 1968). La polaridad de las áreas cardíacas y por tanto la pérdida de regulación por parte del endodermo, se determina más tardíamente, coincidiendo con los cambios morfológicos de las células del endodermo que pasan de ser células endoteliales de forma poligonal irregular, a células en forma de huso, alineadas respecto al eje del embrión. Para ICARDO (1988) no está del todo claro si el endodermo proporciona una información direccional a las preáreas cardíacas. ARIAS y col. (1987) cultivan *in vitro* blastodermo de embrión de pollo del estadio (E) 5 de HAMBURGER-HAMILTON (HH) (1951) previa eliminación del endodermo, observan que únicamente el mesodermo precardiaco está determinado en este

precoz estadio y es capaz de diferenciarse en tejido cardíaco en ausencia del endodermo; sin embargo, el grado de diferenciación de los cardiomioblastos no alcanza el nivel de organización y complejidad miofibrilar que se obtiene en presencia del endodermo.

SATER y JACOBSON (1989) estudian el establecimiento del mesodermo cardíaco en el desarrollo del *Xenopus laevis*. Comprueban que la interacción responsable de la inducción del establecimiento del mesodermo cardíaco se produce antes del término de la fase de gástrula y no requiere la participación del endodermo faríngeo superficial.

LINASK y LASH (1986) realizan un estudio empleando técnicas de inmunofluorescencia indirecta y microscopía electrónica de barrido (MEB) sobre el movimiento direccional de las células mesodérmicas precardiáticas en el embrión de pollo. El movimiento direccional de las células mesodérmicas precardiáticas se va a iniciar en el E 6 HH a partir de las caras laterales del embrión a nivel del nodo de Hensen. Las células se mueven en sentido anterior describiendo un arco en torno a la línea media embrionaria. Hacia el E 8 HH alcanzan las caras laterales de la porta intestinal anterior cesando los movimientos. El tiempo empleado en este movimiento direccional es de aproximadamente 10 horas.

DRAKE y col. (1988) llevan a cabo un estudio a MEB sobre la morfogénesis del corazón embrionario del pollo durante los estadios 5 al 9+ de HH. El componente miocárdico del corazón puede verse por primera vez al microscopio óptico (MO) en el E 5 de HH como dos zonas ovaladas más oscuras, localizadas a cada lado del eje embrionario en la región craneal. Mediante el empleo

del MEB observan que en el E 6 de HH una zona de matriz extracelular, abundante en comparación con el mesodermo esplácnico más lateral y medial, puede identificarse ventral al primordio miocárdico. Conforme progresa el desarrollo del corazón observan elementos endoteliales en el mesodermo esplácnico lateral al primordio miocárdico. En el E 7 de HH observan como estos elementos endoteliales se han anastomosado formando pequeños plexos. Este proceso de anastomosis progresa rápidamente, y en el E 8 de HH la superficie craneal del primordio miocárdico se encuentra totalmente cubierta por plexos vasculares. La progresiva fusión de estos plexos, en el E 8 de HH, va a dar lugar a la formación de amplios elementos tubulares múltiples cerca de la línea media. Más medialmente la fusión de los elementos tubulares va a terminar formando una lámina endotelial continua en la línea media.

Durante la fase de neurulación tiene lugar la formación del tubo neural, el comienzo del desarrollo del tubo digestivo y del corazón, así como la segmentación del mesodermo paraxil; comienza además a delimitarse el cuerpo embrionario a partir de las tres hojas previamente formadas.

La neurulación se inicia con la aparición de un engrosamiento del ectodermo a lo largo de la línea media dorsal para formar la **placa neural** cuyos bordes laterales se elevan para dar lugar a los **pliegues neurales** quedando deprimida en forma de canal, el **canal neural**; el crecimiento de los pliegues neurales les hace confluir en la línea media dorsal donde se fusionan entre sí, dando lugar a una formación tubular, el **tubo neural** que acaba independizándose del ectodermo que lo recubre.

Simultáneamente a la formación del tubo neural, la región

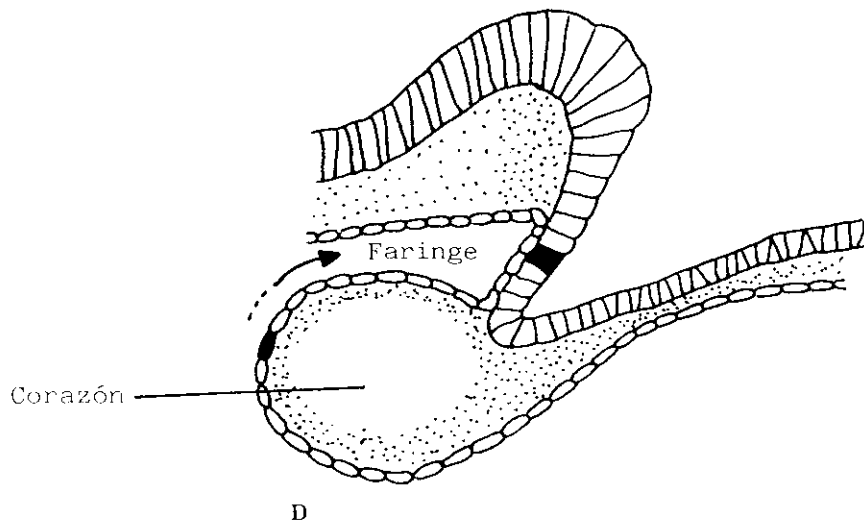
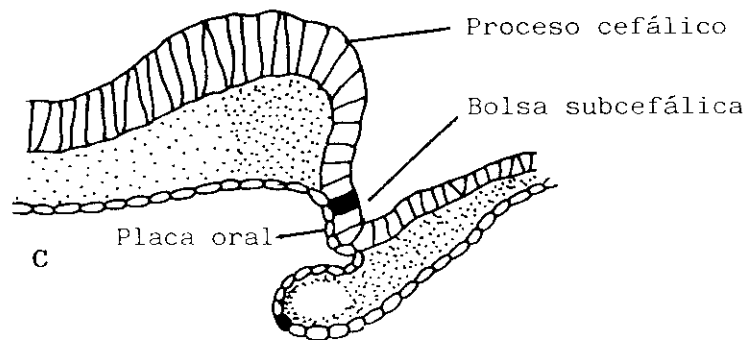
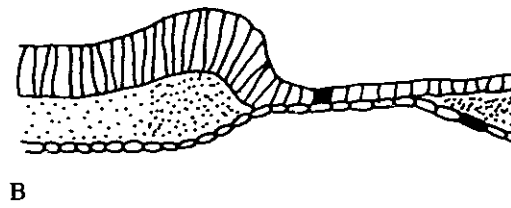
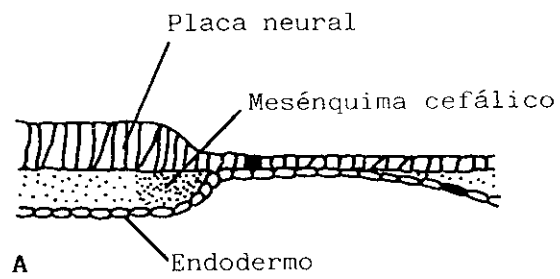
cefálica comienza a crecer sobre la superficie del blastodisco y a alargarse rostralmente, constituyendo el primer paso en la formación del cuerpo embrionario. Este cambio tiene lugar en dos fases. En primer lugar como el tubo neural se alarga rostralmente y crece más deprisa que el ectodermo y el endodermo se forma un pliegue transversal, llamado **pliegue cefálico**, en relación con el borde rostral del telencéfalo (**Fig. 2**). Los tejidos cefálicos elongados reciben conjuntamente el nombre de **proceso cefálico**.

Tras este crecimiento rostral inicial de la cabeza el ectodermo que recubre al encéfalo se pliega hacia abajo formando a los lados los **pliegues corporales laterales** que se continúan con el pliegue cefálico, se hacen más profundos y aíslan el proceso cefálico de los tejidos extraembrionarios subyacentes. Poco después se inicia un proceso similar en la región caudal y se une al craneal en torno al pedículo de unión entre el embrión y las estructuras extraembrionarias.

La formación del tubo digestivo también se inicia durante la neurulación y recuerda la formación del tubo neural. La porción más rostral del tubo digestivo, la faringe, se forma cuando el pliegue cefálico se extiende por debajo del proceso cefálico (**Fig. 2**). Los pliegues endodérmicos laterales se fusionan ventralmente para cerrar el tubo digestivo, proceso que se propaga caudalmente y se completa con otro similar que se inicia en la región caudal para formar el intestino posterior. Las aperturas transitorias de las partes cerradas del tubo digestivo en la cavidad subgerminal se denominan **portas intestinales craneal y caudal** (NODEN y LAHUNTA, 1990).

En embriones de pollo del **estadio 8 HH** (26-29 horas) se

Figura 2 . — Visión esquemática del plano medio sagital del estadio final de gástrula e inicial de néurula. B, Elevación del proceso cefálico. C y D, Plegamiento inicial de la superficie del disco embrionario para formar la bolsa o receso subcefálico. Se han marcado dos células en negro para indicar los desplazamientos que tienen lugar en estos estadios. La flecha en D se introduce en el porta intestinal craneal. (Tomado de **NODEN y LAHUNTA, 1990**).



observa el primer indicio del desarrollo cardíaco. A nivel del mesodermo esplácnico, craneal y lateral al pliegue cefálico, se forman una serie de vesículas que se fusionan entre sí para formar una cavidad en el seno del mesodermo; esta cavidad se alarga transversalmente situándose craneal al lugar de formación del pliegue cefálico. Va a ser la precursora de la **cavidad pleuropericardiaca**. A ambos lados la cavidad se continúa caudalmente con el celoma embrionario. En el mesodermo esplácnico ventral a la presuntiva cavidad pleuropericardiaca se observa un engrosamiento que se denomina **placa cardiogénica** o **esbozo del primordio miocárdico** (NODEN y LAHUNTA, 1990).

En el **estadio 9 HH** (29-33 horas) grupos de células mesoteliales se separan del mesodermo premiocárdico. Estas células migran medialmente con el mesodermo esplácnico, formando una débil malla celular entre el endodermo y el mesodermo precardiaco, organizándose posteriormente en dos tubos endoteliales, **tubos endocárdicos**, unidos al endodermo del intestino anterior. Simultáneamente, los esbozos miocárdicos adquieren una forma semicircular, encerrando cada uno dentro de su concavidad al tubo endocárdico homolateral. Así, el corazón inicialmente está constituido por dos primordios, uno a cada lado, y cada primordio constituido a su vez por dos elementos: el miocardio, en forma de canal abierto hacia la línea media, y el tubo endocárdico dentro de la concavidad del miocardio, muy próximo al endodermo.

Durante este estadio, poco después del cierre del tubo neural cefálico, cuando el tubo digestivo comienza a cerrarse por debajo del romboencéfalo, como consecuencia del proceso de

plegamiento del embrión, los tubos endocárdicos se desplazan hacia la línea media, donde se encuentran y fusionan, formando un tubo endocárdico único y medial, inmediatamente por debajo del suelo del intestino anterior. Desde la línea de fusión comienza a diferenciarse una doble capa mesodérmica, el **mesocardio ventral**, que desaparece casi inmediatamente después de su formación dejando una amplia comunicación entre las cavidades pericárdicas derecha e izquierda. Por un corto período de tiempo, el tubo endocárdico aparece como un canal abierto hacia la región dorsal. Finalmente este canal se cierra por la fusión de las porciones derecha e izquierda de la esplacnopleura dorsal de los tubos endocárdicos. Así, se forma otra capa mesodérmica, el **mesocardio dorsal** que persiste durante un tiempo, pero luego también desaparece. Como resultado de estos procesos, el corazón se convierte en un tubo único ventral, formado a partir de dos primordios laterales y asimétricos. Al mismo tiempo, las cavidades pericárdicas derecha e izquierda dan lugar a una cavidad pericárdica única (DE LA CRUZ y col., 1972).

VIRAGH y col. (1989) estudian la formación de los tubos cardíacos en el embrión de pollo. Proponen que el mesocardio ventral junto con su zona de unión transitoria al intestino anterior, proporcionan un medio a través del cual migran las células proendocárdicas y los capilares primitivos procedentes del mesodermo esplácnico.

OJEDA y HURLE (1985) observan como la muerte celular programada está involucrada en la fusión de los tubos endocárdicos primitivos.

La fusión de los tubos endocárdicos a nivel de la línea

media se realiza siguiendo una dirección cefálica (CASTRO QUEZADA y col., 1972; ARGUELLO y col., 1975) y dorsal (OJEDA y HURLE, 1975) quedando el corazón primitivo formado por un tubo endocárdico único que presenta un septum incompleto en el plano sagital.

La posición del corazón en la línea media no es imprescindible para que se diferencie con normalidad (ICARDO, 1984).

CASTRO QUEZADA y col (1972) sugieren que la fusión se produce a nivel del ventrículo primitivo y del *conus cordis*, desarrollándose el *truncus arteriosus in situ* posteriormente. Por el contrario, DE LA CRUZ y col. (1977) utilizando las mismas técnicas de marcaje, afirman que la fusión de los primordios miocárdicos tiene lugar a nivel de la futura porción trabeculada del ventrículo derecho, cuando todavía no están presentes ni el *conus cordis* ni el *truncus arteriosus*.

Para DE LA CRUZ y col. (1989) en el E 9 HH el tubo recto cardíaco está constituido por dos regiones diferentes: una región cefálica correspondiente al primordio de la porción trabeculada del ventrículo derecho y una región caudal primordio de la porción trabeculada del ventrículo izquierdo. Así, no existe un único primordio para cada cavidad cardíaca definitiva.

A lo largo del desarrollo cardíaco, desde el E 9 HH de tubo recto hasta el estadio 12-22 HH de postasa, aparecen una serie de zonas, cada una de las cuales va a dar lugar a una región anatómica específica de una cavidad cardíaca definitiva. DE LA CRUZ y col. (1989) las han denominado **regiones cardíacas primitivas**.

Como ya hemos comentado, los requerimientos metabólicos del

embrión determinan que el corazón sea el primer órgano en empezar a funcionar. Los mioblastos derivados del mesodermo esplácnico embrionario están organizados en una capa homogénea de células rodeando al tubo cardíaco. Los primeros miofilamentos comienzan a formarse en el interior de los mioblastos en el E 9 HH (LE DOUARIN, 1965; MANASEK, 1968) coincidiendo con el primer momento en que se detecta actividad eléctrica en el corazón, en concreto en el primordio ventricular (HIROTA y col., 1983).

La diferenciación celular implica la activación de un gen o grupo de genes. En el corazón embrionario de pollo la diferenciación celular comienza a expresarse coincidiendo con la fusión de los primordios cardíacos. En este momento, aparecen las primeras miofibrillas en el citoplasma miocítico. Se van a observar en el interior del citoplasma miocítico amplios acúmulos de proteínas contráctiles, tales como la miosina, alfa-actina, y troponina. El inicio de la diferenciación celular en el corazón no se corresponde con el tiempo real de la activación genética. Aunque no sabemos exactamente cómo y cuándo los genes responsables de la diferenciación cardíaca se activan, los diversos estudios realizados mediante el empleo de cultivos y técnicas de marcaje, nos indican que se va a producir en fases muy precoces del desarrollo (ICARDO y MANASEK, 1992).

DE JONG y col. (1990) llevan a cabo un estudio inmunohistoquímico de la distribución tridimensional de la isomiosina auricular y ventricular durante la formación del tubo cardíaco en el embrión de pollo (estadios 7 al 12 HH). Observan como ambos tipos de isomiosina se detectan por primera vez en el E 8 HH, cuando el primordio cardíaco todavía está constituido por

dos placas cardiogénicas separadas. La isomiosina de tipo ventricular se expresa en las zonas de las placas cardiogénicas próximas a la porta anterior. El tipo auricular se expresa, en principio, en las zonas caudal y lateral a la zona de expresión de la isomiosina tipo ventricular. En la zona medial a las zonas de expresión de la isomiosina tipo auricular, inicialmente no existe expresión de la isomiosina. En la zona de las placas cardiogénicas que se va a fusionar dando lugar a la formación del tubo cardíaco, se expresan ambos tipo de isomiosina; sin embargo, las zonas caudolaterales del primordio cardíaco conserva la expresión únicamente de la isomiosina tipo auricular durante la mayor parte del desarrollo.

En el estadio 10 HH (33-38 horas), el corazón es un tubo recto que se localiza en la línea media y ventral con respecto al intestino anterior. Presenta una doble pared formada por el endocardio y el miocardio, situándose entre ellos la gelatina cardíaca descrita por DAVIS (1924).

Durante este estadio se inician de manera incoordinada las primeras contracciones a nivel de la región ventricular (DE HAAN, 1965b). La mayoría de los autores coinciden en señalar que el inicio de las contracciones cardíacas está relacionado con la aparición de las miofibrillas estriadas. ORTS-LLORCA y GONZALEZ-SANTANDER (1969) observan que las contracciones se producen una vez que se forman las primeras bandas Z. Según MANASEK (1976) el comienzo de las contracciones está relacionado con la aparición de miofibrillas estriadas en los cardiomiocitos. RUMYANSTEV (1977) comprueba que cuando aparecen las primeras contracciones la mayoría de las células

diferenciadas presentan miofibrillas que pueden estar constituidas exclusivamente por algunos sarcómeros.

El corazón embrionario permanece como un tubo recto por un período muy limitado. El crecimiento del tubo cardíaco en el interior de la cavidad pericárdica, como resultado de la fusión de los dos primordios con distintas potencialidades de desarrollo, así como los procesos de torsión y flexión del embrión, origina una serie de desplazamientos y torsiones en el tubo cardíaco. Estos influirán sobre la morfología definitiva del corazón con respecto a las relaciones recíprocas de las diferentes regiones de este órgano y con respecto a las relaciones del corazón con el resto de las vísceras (DE LA CRUZ y col., 1972).

El proceso de torsión es complejo debido, sobre todo, a que se produce antes de que se haya completado la fusión de los primordios cardíacos y a que las curvaturas y constricciones que se producen permanecen estables durante el desarrollo (ORTS-LLORCA y col, 1970).

El origen de la asimetría cardíaca, incurvación cardíaca, ha sido un tema discutido durante mucho tiempo. Los mecanismos que regulan esta secuencia genética no han sido explicados satisfactoriamente.

Se ha propuesto que se trata de una deformación física más que del resultado de un crecimiento diferencial. Así, para PATTEN (1922, 1964) y AREY (1965) la torsión cardíaca se produce por el rápido crecimiento que experimenta el tubo cardíaco, mayor que el de la cavidad pericárdica. La torsión es lateral (o frontal) debido al impedimento dorsal ofrecido por el cuerpo del embrión y ventral por el saco vitelino.

El por qué se incurva hacia la derecha se ha tratado de explicar por la teoría flujo moldeante (BREMER, 1932; SPITZER, 1951; DE VRIES y col., 1962) según la cual va a ser la dirección oblicua del flujo sanguíneo que entra por el extremo venoso del primitivo tubo cardíaco la que determina la incurvación hacia la derecha. Otra interpretación es la que DAVIS (1927) propone según la cual el primitivo tubo cardíaco se incurva hacia la derecha como consecuencia del crecimiento diferencial existente entre las diferentes partes del tubo cardíaco.

BACON (1945) y BUTLER (1952) disecan el tubo cardíaco del cuerpo embrionario así como del interior de la cavidad pericárdica antes de iniciarse el proceso de incurvación, y lo depositan en un cultivo. Ambos observan como el tubo recto cardíaco se incurva del mismo modo a como lo hace *in situ*, y más o menos en el mismo tiempo. Así pues, la incurvación hacia la derecha no puede ser el resultado de fuerzas hemodinámicas o mecánicas externas. Estos resultados apoyan lo dicho por DAVIS (1927).

SISSMAN (1966) lleva a cabo una serie de estudios con técnicas autorradiográficas. Propone que la incurvación del corazón hacia la derecha se realiza porque durante un período crítico específico uno de los lados del tubo crece más deprisa que el otro.

STALSBERG (1969), mediante técnicas de marcaje radioactivo, comprueba que en el E 10 HH la aportación celular por parte del miocardio es significativamente mayor desde el lado derecho que desde el lado izquierdo. Esta relación se mantiene en la porción cefálica del asa bulboventricular hasta estadios posteriores. En la porción caudal del asa bulboventricular la relación se

invierte, con mayor aportación celular a partir del lado izquierdo, de tal forma que la asimetría en el número de células puede ser la expresión de una diferencia precoz entre las potencias de desarrollo de los primordios cardíacos derecho e izquierdo determinando la ulterior disposición del asa cardíaca.

Ante estos resultados se plantearon el resolver si las dos áreas cardiogénicas tienen diferentes potenciales de crecimiento. Así, DE HAAN (1959) y VAN PRAAGH (1966) obtienen experimentalmente cardias bífidas. Al examinar ambos corazones en los estadios 10 y 11 HH, antes de que el proceso de incurvación esté muy avanzado, observan como las dos mitades cardíacas son más o menos iguales en tamaño. Sin embargo en los estadios 12 y 13 HH en la mayoría de los casos, el ventrículo anatómicamente izquierdo formado a partir del primordio cardíaco izquierdo era mayor que el formado por el primordio cardíaco derecho, mientras que el ventrículo derecho era mayor el formado por el primordio cardíaco derecho.

Con el fin de comprobar la diferente participación de ambos primordios cardíacos en la formación de las diferentes porciones del corazón se planteó el llevar a cabo un mapeo del mesodermo precardiaco. Los primeros trabajos (RAWLES, 1943; RUDNICK, 1955) consistieron en cortar sistemáticamente al embrión en pequeños fragmentos y trasplantarlos a un medio de cultivo. Esta técnica presenta dos deficiencias principalmente. Una es que el trocito de embrión que se está diferenciando en un tipo concreto de tejido en el cultivo no se corresponde necesariamente con el área que normalmente da lugar a dicho tejido en el embrión *in situ*. Por otro lado, aunque los explantes correspondientes a mesodermo precardiaco se van a diferenciar en tejido cardíaco, normalmente

no es posible reconocer a que parte del corazón corresponden. Así, para llevar a cabo un mapeo del mesodermo precardiaco se requiere una técnica más precisa.

Mediante técnicas cinematográficas se puede observar la localización y movimientos de las determinadas estructuras y grupos celulares a lo largo del desarrollo.

DE HAAN (1963a, 1963b, 1963c, 1965a) lleva a cabo una serie de estudios comprobando que cada porción del mesodermo cardíaco va a dar lugar a una porción específica del tubo cardíaco.

ROSENQUIST (1966) mediante técnicas de marcaje radioactivo asociadas a técnicas autorradiográficas lleva a cabo un mapeo de la posición de mesodermo cardíaco en el momento en que se inicia el proceso cefálico, determinando la contribución de cada parte en la formación del tubo cardíaco.

Se ha comprobado que la incurvación cardíaca no se debe a factores mecánicos, sino que se trata de un proceso intrínseco. El tubo cardíaco posee él mismo la propiedad de incurvarse (**ORTS-LLORCA y RUANO-GIL, 1967 y 1970**), pero la cavidad pericárdica y el tejido retrocardíaco (endodermo intestinal) son factores necesarios para la morfogénesis normal. Así pues, la distinta potencialidad de desarrollo observada en los primordios cardíacos derecho e izquierdo no es la única causa de la torsión normal del corazón, sino que la influencia ejercida por las estructuras que lo rodean y las diferencias entre los movimientos morfogenéticos de los dos lados del cuerpo del embrión son factores importantes en la incurvación del tubo cardíaco hacia la derecha.

HEASTON y col. (1992) mediante el empleo de quimeras de pollo-codorniz estudian el papel del mesodermo precardiaco en la

incurvación del tubo cardíaco. Proponen que el extremo posterior del mesodermo precardiaco secreta un morfogen involucrado en el control del cese de la incurvación.

SHIRAISHI y col. (1992) estudian la distribución de los filamentos de actina durante la miofibrinogénesis del corazón embrionario de pollo embriones de 7 a 13 somitos. Observan notables diferencias entre las capas interna y externa del miocardio, proponiendo que la distribución circunferencial de las miofibrillas localizadas en el fondo de la capa interna miocárdica puede jugar un importante papel en la incurvación del tubo cardíaco.

MANNING (1990) al estudiar la incurvación cardíaca in vitro confirma que se trata de una propiedad intrínseca del corazón.

MANASEK y MONROE (1972) comprueban que la morfogénesis inicial del corazón no depende de la función cardíaca, por lo que no es preciso que exista circulación para que se produzca la incurvación del tubo cardíaco, aunque sí para que se mantengan las cavidades cardíacas y para que el endocardio se diferencie con normalidad (**ORTS-LLORCA y RUANO-GIL, 1967**).

No ha sido posible todavía identificar todos los factores responsables de la incurvación cardíaca, pero parece que un número de variables reguladas independientemente, tales como la citodiferenciación y la producción de matriz extracelular interactúan para regular la expresión de formas complejas (**MANASEK, 1981**).

El proceso más característico del estadio 11 HH (40-45 horas) es la torsión del corazón en el plano frontal. El tubo cardíaco se encuentra fijo en su extremo cefálico por el saco

aórtico y las raíces ventrales de la aorta, y en su extremo caudal por la continuidad de la aurícula con las venas vitelinas. La parte media de la porción bulboventricular (*bulbus cordis* y ventrículo primitivo) por el contrario, es relativamente libre en el interior de la cavidad pericárdica, aunque está unida al suelo del intestino anterior por el mesocardio dorsal. Estos factores mecánicos determinan la mayor movilidad de la porción bulboventricular con respecto al resto del corazón.

Durante el proceso de torsión en el plano frontal comienzan a profundizar los surcos bulboventricular izquierdo y auriculoventricular derecho, mientras que los surcos bulboventricular derecho y auriculoventricular izquierdo se marcan cada vez menos. El resultado es la formación del asa bulboventricular, que es dextroconvexa, dirigida hacia la derecha del cuerpo embrionario, mientras que sus extremos cefálico y caudal permanecen en la línea media. La porción cefálica y situada a la derecha del asa bulboventricular está constituida por el *bulbus cordis*, la porción caudal y dirigida a la izquierda por el *ventrículo primitivo* (DE LA CRUZ y col., 1972).

Durante el proceso de torsión, el corazón sufre cambios ultraestructurales en sus componentes.

El *endocardio*, en contraste con el activo papel del *miocardio*, ha sido generalmente considerado como una estructura pasiva, prestándole los distintos investigadores una menor atención en su posible relación con la morfogénesis cardíaca. Sin embargo, existen evidencias de que el *endocardio* juega un

papel activo en el desarrollo del corazón. Así, parece estar relacionado con la fusión de los primordios cardíacos, síntesis de los componentes de la matriz extracelular y en la formación de los cojines endocárdicos. ICARDO y col. (1982) observan que durante la formación del tubo cardíaco e incurvación del mismo, el endocardio muestra un patrón específico de organización y de polaridad celular. Las células endocárdicas presentan una distribución perpendicular a la luz, en el ventrículo primitivo durante los estadios 9 y 10 HH, y en el *bulbus cordis* y aurícula primitiva desde el E 11 HH.

No está claro el significado y las causas de la polaridad de las células endocárdicas. Sin embargo, parece que depende de la integridad del sistema microtubular dado el elevado número de microtúbulos observados en las células endocárdicas. El sistema microtubular juega un importante papel en el mantenimiento de la estructura y forma de las células, por lo que la polaridad de las células endocárdicas podría tener un posible papel morfogenético (ICARDO y col., 1983a).

Las células miocárdicas también van a experimentar modificaciones durante la formación del tubo cardíaco e incurvación del mismo. Durante los primeros estadios, el miocardio es un tejido epitelial que contiene únicamente miocitos en desarrollo, no observándose ningún componente que no sea muscular (epicardio, células mesenquimales, etc.). Sus células están orientadas radialmente, con grandes espacios intercelulares. Gradualmente, los espacios intercelulares van disminuyendo y las células adoptan una disposición circunferencial una vez concluida la incurvación del corazón.

A diferencia de lo observado durante el desarrollo del músculo esquelético, la cantidad de retículo granular contenido en el citoplasma de las células miocárdicas es abundante y, junto con un aparato de Golgi hipertrofiado, indica que estas células pueden tener una función secretora durante el período inicial de diferenciación miofibrilar. ICARDO y col. (1983a) confirman el papel que juega el miocardio durante el desarrollo miocítico en la síntesis y secreción de los componentes de la matriz extracelular y la importancia del sistema microtubular en el transporte intercelular de dichos componentes.

Los primeros miofilamentos comienzan a desarrollarse en el interior de los mioblastos durante la formación del tubo cardíaco, comenzando a estar bien formados en el estadio de asa (MANASEK, 1968).

MANASEK y col. (1984) sugieren que el cambio que experimenta el corazón de tubo recto a tubo incurbado está relacionado con la citodiferenciación miocárdica, en concreto, con el desarrollo de las miofibrillas, esto es, la orientación miofibrilar puede estar involucrada en la regulación de la incurvación. Uno de los principales problemas que plantea esta consideración es cómo se disponen los elementos citoesqueléticos en las distintas partes del corazón. ITASAKI y col. (1989) estudia los cambios que se producen durante la incurvación del tubo cardíaco en la disposición de las bandas de actina en las células miocárdicas, confirmando que la organización y disposición de las bandas de actina está estrechamente relacionada con la incurvación cardíaca.

Se ha propuesto también que la **gelatina cardíaca** o **matriz**

extracelular juega un papel activo en el proceso de incurvación.

La gelatina cardíaca fue descrita por DAVIS (1924) como una sustancia localizada entre el endocardio y el miocardio, adherida a ambos, elástica, homogénea y transparente.

Va a ser el miocardio el responsable de la síntesis y secreción de los componentes de la matriz extracelular (MANASEK, 1970a; ICARDO y col., 1983a). Durante los primeros estadios del desarrollo (9 al 13 HH) se han observado dos tipos de matriz extracelular diferentes tanto estructural como histoquímicamente. Una localizada en el espacio endomiocárdico, formada por material amorfo y fibrilar; surge entre ambas capas, y aumenta y se reordena durante la incurvación. Otra junto al mesocardio dorsal, de composición diferente, cuyas modificaciones están estrechamente relacionadas con el proceso de fusión de los dos tubos cardíacos (HURLE y col., 1980).

La matriz extracelular experimenta un proceso de maduración caracterizado básicamente por un aumento en la cantidad de glucosaminoglicanos fuertemente sulfatados, la formación de complejos proteoglicanos, la aparición de varios tipos de colágeno, y el desarrollo perinatal de una compleja red de fibras (ICARDO, 1988).

NAKAMURA y MANASEK (1978a) observan que los glucosaminoglicanos juegan un importante papel en la hidratación de la matriz extracelular, y que la estabilidad de la forma de la matriz extracelular es debida principalmente a la red filamentosa y a su posible interacción con macromoléculas de la matriz extracelular. Por lo que sugieren que los factores que controlan el depósito de macromoléculas del tejido conectivo y el ensamblaje de la red filamentosa influyen en la morfogénesis

cardíaca. **MANASEK y NAKAMURA (1985)** proponen a la matriz extracelular como el origen primario de la fuerza deformante en el proceso de torsión. La deformación es regulada por el miocardio que controla la síntesis de esta matriz y/o su hidratación, siendo las modificaciones cardíacas un sistema que se regula en sí mismo.

Durante este estadio, las contracciones cardíacas que se iniciaron en el área ventricular se hacen rítmicas.

Durante el estadio 12 HH (45-49 horas) se completa el proceso de torsión del corazón en el plano frontal y comienza la torsión en el plano sagital. Simultáneamente, la convexidad del asa bulboventricular comienza su desplazamiento hacia el extremo caudal del embrión, que continuará en estadios posteriores al mismo tiempo que se produce la torsión del corazón en el plano sagital. La realización de este desplazamiento a lo largo del eje longitudinal determinará cambios importantes en las relaciones topográficas entre la aurícula y los ventrículos, de tal forma que la región auricular, originariamente caudal con respecto a la región ventricular, pasa a ocupar una posición cefálica y dorsal definitiva con respecto a los ventrículos.

Durante este estadio del desarrollo, la fusión de los primordios cardíacos derecho e izquierdo se completa en la región caudal, constituyendo la aurícula primitiva.

Una vez formada la aurícula primitiva, al adquirir los latidos cardíacos un ritmo más rápido a nivel auricular que a nivel ventricular, el marcapasos cardíaco se desplaza de la región ventricular a la región auricular (**DE LA CRUZ y**

col.,1972).

Durante este estadio se inicia el flujo sanguíneo de la circulación embrionaria y extraembrionaria (DE LA CRUZ y col., 1977).

Durante el estadio 13 HH (48-52 horas) continua la torsión del corazón en el plano sagital. El embrión pasa de apoyarse sobre su superficie ventral a hacerlo sobre su lado izquierdo. Estos cambios fundamentales en la posición del embrión se deben sobre todo a dos procesos: el proceso de flexión por medio del cual el cuerpo del embrión se incurva sobre su superficie ventral hasta adoptar la forma de una "C" de concavidad anterior; el proceso de torsión que es la causa de que el embrión se apoye sobre su lado izquierdo. Ambos procesos se inician en la región cefálica progresando en dirección caudal.

En este estadio la torsión comienza a completarse a nivel caudal y se completa a nivel de la región cefálica.

Al apoyarse el embrión sobre su lado izquierdo, el tubo cardíaco tiene suficiente espacio libre para comenzar a desplazarse en dirección ventral, favorecido a su vez por la ruptura del mesocardio dorsal a nivel de la región bulboventricular. La torsión del corazón en el plano sagital se realiza de tal forma que presenta una convexidad dirigida ventralmente y hacia la derecha y una concavidad que se dirige dorsalmente y hacia la izquierda.

Al mismo tiempo que se produce la torsión en el plano sagital, el asa bulboventricular se desplaza longitudinalmente en dirección caudal, favorecido por la flexión cefálica del embrión. Así, el ventrículo primitivo mantiene su posición a la

izquierda, ligeramente ventral y caudal con respecto a la aurícula y dorsal con respecto al *bulbus cordis*. La región auricular, como consecuencia de los desplazamientos de la región bulboventricular, adquiere una posición cefálica y dorsal con respecto al resto de las estructuras, posición que va a ser definitiva. El crecimiento auricular se realizará en dirección cefálica (DE LA CRUZ y col., 1972).

En este estadio se produce la aparición del *truncus arteriosus* (DE LA CRUZ y col., 1977).

Durante el estadio 15 HH (50-55 horas) el desplazamiento céfalo-caudal del asa bulboventricular a lo largo del eje longitudinal del embrión alcanza su máximo desarrollo, completándose durante el estadio 17 HH (52-64 horas). En este estadio se inicia el desplazamiento del *truncus arteriosus* en el plano sagital, lo que contribuirá a establecer las relaciones espaciales definitivas entre aurículas, ventrículos y grandes vasos. El *truncus arteriosus* se desplaza ventral y caudalmente ocupando una posición anterior con respecto a las aurículas. El *bulbus cordis*, que se continua directamente con el *truncus arteriosus*, adquiere una situación más ventral. El ventrículo primitivo, que comunica directamente con la aurícula, permanece en su posición y se hace progresivamente más dorsal con respecto al *bulbus cordis*.

Al final de este estadio comienza a hacerse aparente un estrechamiento a nivel de la unión aurícula-ventrículo primitivo que será el futuro canal auriculoventricular.

En el extremo caudal del tubo cardíaco, las dos venas onfalomesentéricas, derecha e izquierda, se unen y forman el

ductus venosus, cuyo contenido sanguíneo se mezcla con el procedente de las venas cardinales comunes derecha e izquierda (resultado de la unión de la vena cardinal anterior y posterior de cada lado) para formar los conductos de Cuvier que desembocan finalmente en el seno venoso, cámara de recepción que empieza a constituirse y a incorporarse en el extremo caudal del tubo cardíaco en este estadio.

En el pollo, el seno venoso es una cavidad del corazón adulto que comunica con la aurícula derecha. En el hombre, por el contrario, su incorporación a la aurícula derecha es completa y no puede distinguirse en el corazón adulto como una estructura separada.

Los latidos miocárdicos van a ir apareciendo en las principales regiones cardíacas en la misma secuencia en que estas se van conformando. Así, las primeras contracciones aparecen a nivel ventricular (aproximadamente a las 29 horas) antes de que el ventrículo esté constituido totalmente. En un principio, el ritmo de estas contracciones es muy lento (26 latidos/minuto en embriones de 10 a 12 somitos). Cuando se forma la aurícula primitiva, al adquirir los latidos cardíacos un ritmo más rápido a nivel auricular, se va a desplazar el marcapasos cardíaco de la región ventricular a la región auricular (60 latidos/minuto en embriones de 13 a 15 somitos). Una vez constituido el seno venoso empieza a contraerse con una mayor frecuencia que la aurícula, sufriendo el marcapasos cardíaco un segundo desplazamiento desde la región auricular al seno venoso, donde permanecerá el definitivo marcapasos cardíaco (nodo sinusal) (DE LA CRUZ y col., 1972).

PATTEN (1956) realiza unos experimentos de transección entre

las distintas regiones del corazón. Al practicar una sección transversal entre la aurícula y ventrículo primitivos observa como la aurícula posee de forma inherente un ritmo más rápido (Fig. 3B) y que toma la función de marcapasos del corazón. Del mismo modo, cuando realiza la transección entre la aurícula y el seno venoso observa que el ritmo de éste es mayor que el de la aurícula (Fig. 3C).

Este desplazamiento cefalocaudal del marcapasos cardíaco permite que el centro que marca el ritmo se encuentre en todo momento en el extremo por el que entra la sangre al corazón, facilitando así, en todo momento, el bombeo de la misma a través del tubo cardíaco.

DE HAAN (1959) al obtener experimentalmente cardias bífidas, observa como el corazón derecho comienza a latir a un ritmo más rápido que el izquierdo, aproximadamente coincidiendo con el momento en que se formaría el seno venoso, lo que sugiere que el marcapasos cardíaco original se encuentra en el primordio cardíaco derecho.

CAIN y col. (1967) estudian la frecuencia cardíaca durante el desarrollo del embrión de pollo. Observan como la frecuencia cardíaca aumenta desde el día 4 hasta el día 10 para luego disminuir hasta el momento de la eclosión. la frecuencia media en el día 10 es de 280 latidos/minuto y en el día 19 de 263 latidos/minuto.

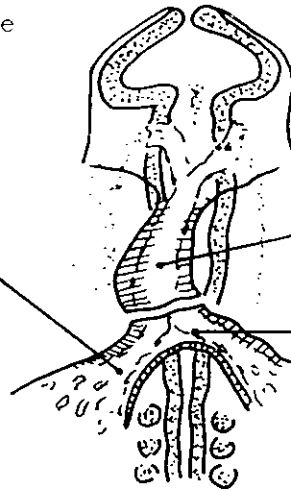
Durante el estadio 18 HH (3 días) el *truncus arteriosus* ocupa una posición definitiva ventral y a la derecha con respecto a la aurícula.

El estrechamiento a nivel de la unión aurícula- ventrículo

Figura 3.— Localización de los cortes realizados en corazones de embriones jóvenes vivos. **A**, Embriones de 10 a 12 somitos. En este momento el ventrículo es el que únicamente se encuentra latiendo y al separarlo de la aurícula inactiva no se observa ningún efecto apreciable en su ritmo. **B**, Embriones de 13 a 15 somitos. En esta etapa la aurícula ha comenzado a latir y actúa como marcapasos en el corazón intacto. La sección transversal entre la aurícula y el ventrículo muestra que la aurícula esencialmente conserva el pulso del corazón intacto, en tanto que el ventrículo reduce su actividad aproximadamente al mismo ritmo que exhibió antes que se activara la aurícula e impulsara al ventrículo a su propio y mayor ritmo. **C**, Cuando se corta el corazón de un embrión de cuatro días en tres partes, cada una late a su ritmo característico. (Tomado de **PATTEN**, 1956).

Ritmo cardíaco antes de
cortar: 26/min.

Futura región venosa,
únicamente el endote-
lio primordial



Ritmo del ventrículo
cortado: 25/min.

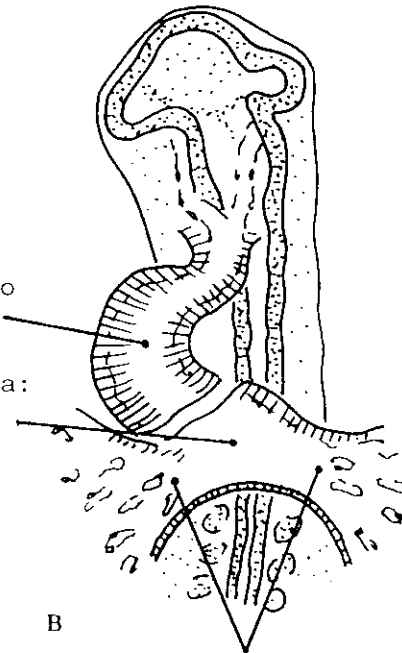
Aurícula, primordio sin
fusionar aún sin latir

A

Ritmo del corazón
(intacto): 60/min.

Ritmo del ventrículo
cortado: 24/min

Ritmo de la aurícula:
62/min.



B

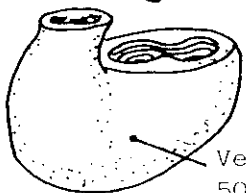
Primordio venoso, aún
sin latir



Seno venoso:
140/min.



Aurícula:
100/min.



Ventrículo:
50/min.

C

primitivo empieza a ser evidente (DE LA CRUZ y col., 1972).

Durante el estadio 22 HH (3½-4 días) la aurícula ha experimentado un notable ensanchamiento a ambos lados y el *truncus arteriosus* se une íntimamente a su superficie ventral completando casi definitivamente su desplazamiento ventral.

En este estadio empiezan a observarse los primeros indicios de **septación cardíaca**, por la que se dividen la aurícula, canal auriculoventricular, porción bulboventricular y *truncus arteriosus*. De esta forma, el tubo cardíaco en el que la sangre circula cefalocaudalmente se va a transformar en un órgano con cuatro cavidades por las que discurren dos circulaciones (sistémica y pulmonar) (DE LA CRUZ y col., 1972).

Durante el estadio 25 HH (4½-5 días) los diferentes procesos de septación cardíaca son más evidentes.

El primer esbozo del **septum interauriculare** aparece entre las 48-58 horas de incubación (DE LA CRUZ y col., 1972) en forma de relieve subendocárdico localizado en la pared dorsal y cefálica de la aurícula primitiva, ligeramente a la izquierda de la línea media. Este tabique crece ventrocaudalmente como consecuencia de un proceso de proliferación celular endocárdico, rellenándose más tarde la porción ventral de este rodete por tejido miocárdico. El *septum primum* así formado crece progresivamente hacia el canal auriculoventricular, adquiriendo forma de media luna de concavidad ventrocaudal cuyos extremos ventral y dorsal se continúan con los cojinetes auriculoventriculares, dejando un orificio central, el foramen primum, que progresivamente disminuye de tamaño como

consecuencia del crecimiento de su borde libre. Finalmente, esta comunicación desaparece en embriones de 5 días de incubación, cuando la aurícula común aparece dividida en aurícula derecha y aurícula izquierda. Antes de que se produzca la completa fusión entre el *septum primum* y los cojinetes del canal auriculoventricular, aparecen numerosas perforaciones en el *septum primum* que permiten el paso de sangre desde la aurícula derecha a la aurícula izquierda dando lugar al foramen secundum. Estos orificios se sitúan en la porción dorsal del tabique, no observándose nunca en su mitad ventral; su número y tamaño es variable, y cada foramen, formado por delgados filamentos de miocardio revestidos de endocardio, se separa del adyacente por una delgada banda endocárdica de tejido septal. La conducta invasiva del endocardio desalojando la capa continua de miocardio, y la muerte celular programada parecen ser los mecanismos básicos involucrados en la formación del foramen secundum en el embrión de pollo (MORSE y col., 1984). La degeneración celular programada parece jugar un papel mínimo en este proceso (MORSE, 1981). La propuesta de que la interrupción focal del *septum primum* podría ser debida a la presión auricular derecha aumentada (CHANG, 1931) parece ser incorrecta, dado que el foramen secundum se forma en ausencia de flujo sanguíneo (HENDRIX y col., 1983); así pues, los factores hemodinámicos no están involucrados en este proceso. El *septum interauriculare* completa su formación por la fusión de otras estructuras. La pared derecha del seno de las venas pulmonares se fusionará con la porción cefálica del lado izquierdo del *septum primum*, y la pared izquierda de la vena precava izquierda (conducto de Cuvier izquierdo) se fusionará con la porción caudal del lado derecho

del *septum*. La porción central del *septum interauriculare*, constituida exclusivamente por el *septum primum*, permanece como un área delgada y transparente cuando se compara con sus porciones cefálica y dorsal (HAMILTON, 1952; ROMANOFF, 1960; DE LA CRUZ y col., 1972).

La formación de los cojinetes endocárdicos y rodetes bulbares está estrechamente relacionada con el desarrollo septal y valvular en el corazón embrionario.

Los cojinetes endocárdicos y los rodetes bulbares son masas acelulares de matriz extracelular que se desarrollan en el *bulbus cordis* y en el canal aurículo-ventricular del corazón embrionario. Estas masas de tejido acelular pronto son invadidas por células principalmente derivadas del endocardio. Así, algunas de las células endocárdicas que revisten estas áreas de los cojinetes endocárdicos se vuelven "activas" desarrollando prolongaciones celulares migratorias, y emigrando hacia el interior de la matriz extracelular (ICARDO, 1989b).

Distintos autores han contribuido al conocimiento de estos hechos. Así, PATTEN y col. (1948) sugirieron en un principio que las células mesenquimales presentes en los cojinetes endocárdicos derivaban de la capa endotelial del corazón en desarrollo. MARKWALD y col. (1977) llevaron a cabo una amplia investigación en el embrión de rata y de pollo mediante métodos ultraestructurales y citoquímicos corroborando que las células mesenquimales de los cojinetes y rodetes proceden de las células endocárdicas que revisten el canal auriculoventricular y el *bulbus cordis*. Estas células son activadas desarrollando aparatos

móviles, emigrando hacia el interior de la matriz extracelular y transformándose en células mesenquimales. KINSELLA y FITZHARRIS (1980) observaron mediante técnicas cinematográficas que efectivamente las células mesenquimales de los cojinetes endocárdicos se separan del endotelio emigrando hacia la matriz extracelular. KRUG y col. (1985) llevan a cabo un estudio experimental sobre la citodiferenciación del endotelio cardíaco. Comprueban el importante papel de la matriz extracelular en el inicio de la diferenciación de las células endoteliales en células mesenquimales. Además, sostienen que la formación del tejido mesenquimal de los cojines puede resultar de una interacción del miocardio con el endocardio adyacente. Se piensa, que el miocardio secreta algunas sustancias sobre la matriz extracelular que activan las células endoteliales. Hasta el momento no se ha descrito ningún activador o inductor específico.

La estructura y conducta de las células endocárdicas que emigran hacia el interior de la matriz extracelular ha sido estudiado tanto *in vivo* como *in vitro*. Sin embargo, se ha prestado menor atención a las células que permanecen en el plano endocárdico, aunque algunas características morfológicas de estas células han sido descritas (MARKWALD y col., 1975; BOLENDER y MARKWALD, 1979). ICARDO (1989b) estudia los cambios morfológicos que se producen en las células endocárdicas durante el desarrollo de los cojines endocárdicos. Propone que están relacionados con la actividad de las células endocárdicas, que a su vez parece estar relacionada con el mantenimiento de la integridad del endocardio.

Los cojines endocárdicos a nivel del canal auriculoventricular, cojinete endocárdico superior o ventral y cojinete endocárdico inferior o dorsal (DE LA CRUZ y col., 1972), están constituidos por dos proliferaciones endocárdicas que casi contactan entre sí en el plano sagital. Por debajo, los dos ventrículos comunican libremente por encima del *septum interventriculare*, que es rudimentario en el E 25 HH. Por encima, ambas aurículas, que se encuentran parcialmente separadas por el *septum primum*, se comunican a través del foramen primum. La fusión de ambos cojinetes se realiza en el E 28 HH (5½ - 6 días) observándose tan solo una pequeña hendidura entre sus extremos caudales (HAY y LOW, 1972; LOS y VAN EIJNDTHOVEN, 1973; GARCÍA PELAEZ y col., 1984). Ambos cojinetes en el lado izquierdo van a originar prominencias laterales que en estadios posteriores constituirán el primordio de las hojas dorsal y ventral, respectivamente, de la porción septal de la válvula auriculoventricular izquierda. El desarrollo de la válvula auriculoventricular izquierda es idéntico en el hombre y en el pollo. Por el contrario, el desarrollo de la válvula auriculoventricular derecha difiere en ambas especies. En el embrión de pollo se constituye como una porción lateral grande, gruesa y única, de naturaleza muscular, no presentando cuerda tendinosa (DE LA CRUZ y col., 1972). Así pues, la válvula auriculoventricular derecha en el hombre es trivalva y de naturaleza fibrosa, mientras que en el pollo es bivalva y de naturaleza muscular.

El proceso de fusión de los cojinetes auriculoventriculares se realiza por interdigitación entre las células del tejido endotelial, sin que se produzcan cambios degenerativos en las

mismas. Se observan numerosas mitosis y focos de eritropoyesis en el endotelio así como en el mesénquima subendotelial. En estadios posteriores, las características endoteliales de estas células desaparecen dando lugar a un único cojín mesenquimal (LOS y DRUKKER, 1969; HAY y LOW, 1972; LOS y VAN EIJNDTHOVEN, 1973).

DE LA CRUZ y col. (1983) observan que el cojinete endocárdico inferior va a dar lugar a: regiones de los *septa interauriculare* e *interventriculare* próximas al *septum auriculoventriculare*; hoja anteroseptal de la válvula auriculoventricular izquierda, cresta fibrosa (equivalente en el hombre a la hoja septal de la válvula tricúspide); parte del tabique cardíaco entre la inserción septal de la hoja anteroseptal de la válvula auriculoventricular izquierda y de la cresta fibrosa.

GARCIA PELAEZ y col. (1984) observan que el cojinete endocárdico superior contribuye a la formación de la base de la porción libre de la hoja anteroseptal de la válvula auriculoventricular izquierda, así como a la pared anteromedial y posterolateral del infundíbulo ventricular izquierdo.

Por el contrario, WENINK y GITTENBERGER-DE GROOT (1985) y WENINK y ZEVALLOS (1988) estudiando embriones humanos, sostienen que los cojinetes auriculoventriculares no contribuyen a la formación de los septos musculares maduros, corroborando la hipótesis de VAN MIEROP (1976). Su acción principal sería el mantenimiento de varios componentes musculares septales que de otra forma tenderían a crecer anárquicamente. De igual modo, no contribuyen a la formación de las hojas valvulares, pero cubrirían durante el proceso indiferenciado parte del miocardio

donde posteriormente se insertan, favoreciendo el desarrollo continuado de las mismas hasta el final de la organogénesis. Critican el hecho de que la mayoría de los trabajos realizados empleando al embrión de pollo como modelo experimental únicamente abarcan hasta los estadíos 35-37 HH (8½-9 días y 11 días) mientras que el corazón experimenta todavía un gran crecimiento hasta el E 46 HH (21 días).

Los ventrículos definitivos son estructuras complejas formadas por: una porción de entrada, una porción trabeculada y una porción de salida o infundíbulo. Los ventrículos están separados entre sí por el *septum interventriculare* definitivo; proximalmente, están unidos a las aurículas y, distalmente, a las grandes arterias. Las diferentes porciones ventriculares se van a desarrollar a partir de distintas regiones del tubo cardíaco primitivo, lo que va a determinar que cada ventrículo presente características morfológicas peculiares. En el ventrículo derecho, la porción de entrada deriva del ventrículo primitivo, la porción trabeculada de la porción proximal del *bulbus cordis* y la porción de salida, principalmente, de la porción distal del *bulbus cordis* o *conus cordis*. En el ventrículo izquierdo la porción de entrada deriva del ventrículo primitivo, la porción trabeculada también deriva del ventrículo primitivo y la porción de salida del segmento troncoconal (GIMENEZ RIBOTTA y col., 1984).

El primer esbozo ventricular aparece en el período de preasa, formado por la porción proximal del *bulbus cordis* y por el ventrículo primitivo, siendo las únicas regiones del corazón representadas en esta etapa (DE LA CRUZ y col., 1977; ARTEAGA y

col., 1984).

En el período de asa aparecen dos nuevos segmentos en el corazón: el cono que constituye la porción distal del *bulbus cordis*, y la aurícula primitiva. Así, en esta etapa, el corazón está constituido, caudalmente, por la aurícula primitiva y, cefálicamente, por el asa bulboventricular formada por dos ramas: una rama cefálica o *bulbus cordis* y una rama caudal o ventrículo primitivo (DE LA CRUZ y col., 1972; ARTEAGA y GARCÍA-PELAEZ, 1984).

Tradicionalmente se ha venido aceptando que el crecimiento y desarrollo del ventrículo primitivo consiste en un proceso de diverticulización de las paredes libres ventriculares (HOCHSTETTER, 1906; STREETER, 1948; PATTEN, 1951; GOOR y col., 1975). Así, en el período de postasa, en la región ventral del endocardio de cada una de las ramas del asa bulboventricular se va a desarrollar una zona, que va creciendo y formando un divertículo endotelial hasta constituir dos bolsas trabeculares, son los primordios de la porción trabeculada de los ventrículos derecho e izquierdo; estos primordios están ampliamente comunicados entre sí por un amplio orificio, foramen bulboventricular, cuyo techo está formado por el espolón bulboventricular (la curvatura interna del asa bulboventricular forma un surco externo, surco bulboventricular, que internamente se corresponde con una cresta prominente, el espolón bulboventricular). Los primordios de la porción trabeculada de los ventrículos presentan una cavidad pequeña, con una gruesa capa de matriz extracelular y una capa miocárdica compacta. Conforme avanza el desarrollo, en la capa miocárdica empiezan a observarse amplios espacios intercelulares que dan una

apariencia esponjosa a la parte más interna de esta capa; el endocardio se invagina entre estos espacios formando verdaderas lagunas intramiocárdicas recubiertas de endocardio. Este proceso, denominado comúnmente de diverticulización, es el responsable del patrón trabecular primitivo, típico de las bolsas trabeculares (GIMENEZ RIBOTTA y col., 1984).

El proceso de trabeculización va a caracterizar el desarrollo de la región ventricular en el corazón embrionario. La trabeculización, de forma esquemática, consiste en discretas invaginaciones que proyecta el endocardio hacia el interior de la matriz extracelular que alcanzan la superficie basal lisa del miocardio penetrando en la pared miocárdica.

El desarrollo de la trama trabecular representa una serie de ventajas importantes. Caso de no existir la pared ventricular sería demasiado pesada y compacta para que el corazón llevase a cabo adecuadamente su función contráctil. La trama trabecular va a permitir el fácil acceso de la sangre a la gruesa pared ventricular. Además, la coalescencia de las primeras trabéculas en el ápex ventricular va a dar lugar a la formación del primordio del septum muscular interventricular.

El destino de la trabéculas embrionarias va a variar. Durante las últimas fases del desarrollo la pared ventricular va a experimentar de nuevo un proceso de compactación, con lo que la mayoría de las trabéculas son incorporadas al interior de la pared ventricular. Otras van a fusionarse para dar lugar a los músculos papilares, y algunas otras se van a atrofiar y transformar dando lugar a las cuerdas tendinosas (ICARDO y MANASEK, 1992).

MORSE y col. (1984) llevan a cabo un estudio a MEB de la

formación de las cuerdas tendinosas de la valva atrioventricular izquierda en el embrión de pollo. Se van a desarrollar entre los días 6 y 13 de incubación. Lo primero en observarse son unas elevaciones en la pared ventricular que constituyen los músculos papilares primitivos. Estas elevaciones van a expandirse, adelgazándose y adquiriendo una forma de membrana plegada que se une a las cúspides valvulares primitivas. Los pliegues constituyen los primordios de las cuerdas tendinosas. Se van a desarrollar una serie de crestas lineales sobre la membranas plegadas alternando con depresiones. Estas depresiones van a terminar perforándose, formándose así las cuerdas tendinosas a partir de las crestas lineales. No observan cuerdas tendinosas de primer orden (unidas al borde libre de las cúspide) en el embrión de pollo. La mayoría son cuerdas tendinosas de segundo orden, unidas a la superficie ventricular de la cúspide a poca distancia del borde libre. También se observan cuerdas tendinosas de tercer orden que se extienden desde los músculos papilares a la pared ventricular. Proponen que el desarrollo de las cuerdas tendinosas es tanto un suceso celular programado como hemodinámico.

Probablemente, debido a la aparente simplicidad del proceso de trabeculización, la secuencia morfológica de sucesos que se produce durante la trabeculización ventricular han permanecido durante mucho tiempo sin investigar.

Con técnicas de marcaje específicas para la fibronectina se observa que esta aumenta cuando se inicia el proceso de trabeculización, para ir disminuyendo conforme madura el embrión (ICARDO y col., 1983b). Sin embargo, el significado de estos

cambios en los patrones de fibronectina no está claro.

Se ha observado también, que la actividad de la hialuronidasa aumenta durante el proceso de trabeculización, pudiendo interrumpir la organización estructural existente en la gelatina cardíaca, facilitando la progresión de las invaginaciones endocárdicas (ORKIN y col., 1978; NAKAMURA, 1980). Sin embargo, no está claro si la actividad proteolítica está confinada al miocardio, o al endocardio, o a ambos. La actividad proteolítica está presente en otras partes del corazón, lo que indica que la actividad detectada representa un fenómeno generalizado durante los procesos de remodelamiento rápido y de formación (ICARDO y MANASEK, 1992).

Recientemente, varios investigadores han centrado sus estudios en la disposición arquitectural de las trabéculas ventriculares (BEN-SHACHAR y col., 1985; DOR y col., 1989) y en la contribución de las trabéculas al desarrollo del *septum interventriculare* (HARH y PAUL, 1975; BEN-SHACHAR y col., 1985; DOR y col., 1989).

ICARDO y col. (1987) realizaron un estudio morfológico sobre la trabeculización ventricular en el embrión de pollo. Pese a su aparente simplicidad, la trabeculización está lejos de ser un simple proceso. Parece ser la expresión de tres sucesos estrechamente relacionados: la formación de invaginaciones endocárdicas que terminan invadiendo el miocardio; el desarrollo de amplios espacios intercelulares entre los miocitos; la disminución en el espesor de la matriz extracelular. Así, la trabeculización parece ser el resultado de una secuencia compleja de sucesos coordinados en los que las tres capas del corazón podrían estar implicadas. SCHUNEMANN (1987) corrobora

los resultados de ICARDO.

La naturaleza de los mecanismos que regulan el proceso de trabeculización así como el significado funcional de la trabeculización en los primeros estadios del desarrollo permanece sin resolverse.

MANASEK (1970b) lleva un estudio sobre la histogénesis del miocardio en el embrión de pollo. El rápido crecimiento del ventrículo primitivo se acompaña internamente por un proceso de diverticulización que va a cambiar el aspecto de la pared ventricular. Al final del estadio de asa, se van a formar amplios espacios intercelulares en la capa miocárdica. Como resultado, el miocardio compacto en un principio se divide en dos capas: una capa externa o compacta y una capa interna o esponjosa. Al mismo tiempo el endocardio se invagina en el interior de la gelatina cardíaca dirigiéndose hacia el miocardio, para terminar contactando e introduciéndose en el interior del mismo, formándose así las primitivas trabéculas. Estas se aíslan pronto de la pared del ventrículo transformándose en delgadas capas de tejido miocárdico revestidas por endocardio.

BEN-SHACHAR y col. (1985) llevan a cabo un estudio de los acontecimientos morfogénéticos que tienen lugar en el ventrículo del corazón embrionario de pollo durante los estadios 16 al 39 HH.

a) Estadio 16 HH (51-56 horas).

La superficie interna del ventrículo primitivo es lisa, no trabeculada, revestida por células endocárdicas.

b) Estadío 17 HH (52-64 horas).

Se observa el inicio de la formación de trabéculas en la región bulbar y en la porción distal del ventrículo primitivo. El resto del ventrículo primitivo permanece no trabeculado.

c) Estadío 18-19 HH (3-3½ días).

La superficie interna del ventrículo primitivo muestra una extensa trabeculización, distribuida más o menos uniformemente por todas partes, cubriendo al ventrículo primitivo hasta la proximidad del canal auriculoventricular. Las trabéculas están constituidas por miocitos revestidos por células endocárdicas. Se disponen en "haces principales" dirigidos dorsoventralmente, cubriendo el suelo del ventrículo primitivo así como sus paredes dorsal y ventral. Unas trabéculas más delgadas y pequeñas, "haces trabeculares secundarios", se extienden desde un haz trabecular principal a otro. Durante este estadío la trabeculización es uniforme por todo el ventrículo primitivo.

d) Estadío 20-22 HH (3½-4 días).

El surco bulboventricular existente entre ambas porciones del asa bulboventricular se corresponde internamente con una zona de elevada concentración de haces trabeculares principales; dicho fenómeno se observa también a ambos lados de dicha zona, cubriendo por completo la superficie del asa bulboventricular por debajo del ventrículo primitivo. El interior del asa

bulboventricular se encuentra recubierto por "láminas trabeculares" semejantes a las hojas de un libro. Surgen desde el suelo del ventrículo primitivo siendo el eje de cada lámina trabecular aproximadamente de 90° respecto al eje del ventrículo primitivo. Las láminas trabeculares están orientadas dorsoventralmente análogamente a como lo estaban los haces trabeculares principales en estadios anteriores. Cada lámina se asemeja a una malla con amplios espacios y delicadas hebras. Las trabéculas secundarias se extienden desde una lámina a otra transversalmente o de derecha a izquierda. Ni en cortes frontales ni transversales se identifica el septum muscular ventricular.

e) Estadio 23-26 HH (4-5 días).

En la porción proximal del asa bulboventricular, las láminas se encuentran orientadas dorsoventralmente como se observaba en estadios anteriores. Sin embargo, en la porción distal del asa se van a dispersar algo de manera semicircular, con los extremos dorsales estrechamente unidos pero con los ventrales muy dispersos. Las láminas trabeculares en la porción proximal del asa han cambiado también de forma; presentan una porción craneal ancha y lisa, lo que se denomina "placa trabecular", y una pared de cordoncillos trabeculares y espacios más caudalmente. A nivel del asa, sin embargo, no se observan placas trabeculares, y las láminas trabeculares están constituidas únicamente por una red de cordoncillos y espacios. Las trabéculas secundarias son más escasas y más delicadas estructuralmente hablando.

Hacia el final del estadio 26 HH, las láminas trabeculares que han aumentado en número en la zona que limita ambas porciones del asa comienzan a fusionarse a nivel de las placas trabeculares. Sin embargo, caudalmente las láminas permanecen separadas unas de otras.

f) Estadio 28-30 HH (5½-7 días).

La fusión de las láminas trabeculares en la zona limítrofe se completa durante los estadios 28-29 HH. La fusión va a dar lugar a la formación de un delgado *septum musculare*. El borde craneal del *septum musculare* se va a continuar con el *septum* procedente del cojín auriculoventricular formando el suelo del infundíbulo izquierdo.

En el E 30 HH, ambos ventrículos presentan todavía gran número de láminas trabeculares dispuestas dorsoventralmente en el ventrículo izquierdo y dispersas de modo circular en el ventrículo derecho. A mitad de camino entre estas estructuras se encuentra el *septum musculare*.

g) Estadio 30-39 HH (7-13 d)

A partir del E 30 HH el desarrollo del *septum musculare* va a consistir en un continuo engrosamiento y en una disminución del tamaño de los espacios trabeculares existentes dentro del mismo. Las láminas trabeculares en el interior de ambas cámaras ventriculares van a experimentar una relativa disminución respecto al progresivo aumento volumétrico intracavitario de ambos ventrículos, adosándose la mayoría de las láminas de modo

progresivo a la pared libre ventricular.

A partir del E 30 HH en el interior del fusionado *septum musculare* se observan una serie de canales revestidos de endocardio orientados tanto craneocaudalmente como de derecha a izquierda. Parecen ser restos de las superficies endocárdicas trabeculares que todavía no se han superpuesto a pesar de la fusión de las láminas trabeculares.

DOR y col. (1989) llevan a cabo un estudio de la zona trabeculada del ventrículo primitivo en embriones de pollo de 2½-7 días de incubación. El ventrículo primitivo está comprendido entre las curvaduras mayor y menor del asa cardíaca. Dos zonas concéntricas ocupan su cara interna: una lisa cerca de la curvatura menor, otra trabeculada a lo largo de la curvatura mayor. La zona trabeculada ocupa el fondo del ventrículo primitivo. Es común a los dos ventrículos. El miocardio del ventrículo primitivo se divide en una capa externa y otra interna. La capa externa se encuentra revestida superficialmente por el epicardio. La interna se reviste por su cara profunda de endocardio, permaneciendo simple (sin pliegues), en la zona lisa; se pliega y se perfora en la zona trabeculada. Van a dar lugar a las trabéculas primitivas y secundarias.

Las "trabéculas primitivas" ocupan la zona trabeculada. Comienzan a aparecer entre 2½-3 días de incubación. Son grandes, poco numerosas, semicirculares. Sobresalen en el interior de la cavidad ventricular. Tienen un borde libre cóncavo, y un borde parietal convexo. Son sagitales y transversales. Las más precoces son las "trabéculas sagitales". Ocupan la totalidad de

la zona trabeculada. Se originan a partir del plegamiento de la capa interna del miocardio, produciéndose antes que el plegamiento del endocardio por lo que será el miocardio quien labrará al endocardio, y no a la inversa. Se disponen de manera más o menos equidistante a lo largo de la curvatura mayor, teniendo por centro el fondo de la curvatura menor o surco auriculoconal. Se trata de láminas que presentan un aspecto liso cerca de su borde libre e irregular cerca de su borde parietal. Se encuentran unidas en toda su extensión a la capa externa del miocardio. En un número aproximado de doce, surgen de derecha a izquierda siendo numeradas en este sentido. Van a dar lugar a los músculos papilares y al *septum interventriculare*.

Las "trabéculas transversales" aparecen un poco más tardíamente, y únicamente en la parte derecha de la zona trabeculada. Se originan del borde libre de las trabéculas sagitales, saltando a modo de puente por los espacios existentes entre ellas. Se unen a la pared de manera discontinua. Tienen forma de cordón. Su número y posición es variable. Dispuestas desde el *septum interventriculare* hasta la pared lateral del ventrículo derecho, se designan con el nombre de trabéculas septoparietales o septomarginales.

La más importante de estas trabéculas es la "banda moderatriz". Su esbozo es uno de los primeros en aparecer. Junto con la banda septal, de la que es prolongación, aparece precozmente, al final del día tres de incubación. Nace del borde libre de las trabéculas sagitales septales y ampulares derechas. Se proyecta hacia la pared lateral derecha, pasando a modo de puente por encima de las trabéculas subyacentes, o insertándose sobre ellas. Así pues, se va a localizar en la

parte ventral del ventrículo derecho. No sobrepasa la zona trabeculada. Termina en forma de "T" sobre la primera trabécula sagital, es decir, sobre la situada más a la derecha. Es inconstante. En ocasiones se desdobla. Es de entrada transversal, antes de que se inicie la migración septal. Las otras trabéculas septoparietales aparecerán un poco más tarde.

Las "trabéculas secundarias" van a completar a las trabéculas primitivas. Son muy numerosas, pequeñas y delgadas, anastomosadas entre ellas. Forman una densa red. Invaden la pared del ventrículo primitivo desde el ápex a la base, extendiéndose al canal auriculoventricular y al conus. Están comprendidas entre las capas externa e interna del miocardio. En la zona trabeculada se localizan al pie de las trabéculas sagitales. En la zona lisa, del lado derecho, adquieren tal desarrollo que la capa interna es rechazada lejos de la externa. Más tarde, de este lado, su desaparición aislará ambas capas.

Así pues, la trabeculización se inicia en el ápex ventricular pareciendo ser un proceso no estructurado en principio. Las pequeñas depresiones que corresponden a las invaginaciones endocárdicas y a las crestas de las primitivas trabéculas proporcionan un aspecto desigual al ápex del ventrículo primitivo. Sin embargo, hacia el día tres de incubación se observa un alineamiento dorsoventral generalizado. Hacia el día cuatro de incubación las trabéculas miocárdicas aparecen orientadas en el ápex ventricular en dirección dorsoventral. Con el crecimiento centrífugo de la cámara del ventrículo primitivo las trabéculas adoptan una definitiva orientación radial. La orientación radial de las trabéculas ventriculares es más aparente en el ventrículo derecho. En el

ventrículo izquierdo las trabéculas localizadas más próximas al ápex mantienen una clara orientación dorsoventral. Las trabéculas transversales van a ser características del ventrículo derecho, mientras que las trabéculas sagitales, conservando su primitivo aspecto, lo van a ser del ventrículo izquierdo.

La orientación radial de las trabéculas y las pequeñas diferencias observadas entre los dos ventrículos corroboran la presencia de centros de proliferación celular en las cámaras ventriculares (RYCHTER y RYCHTEROVA, 1981).

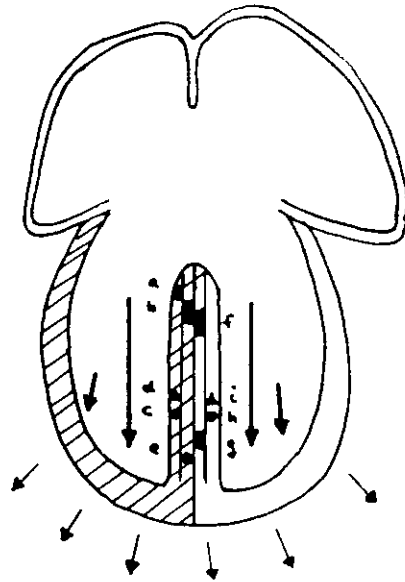
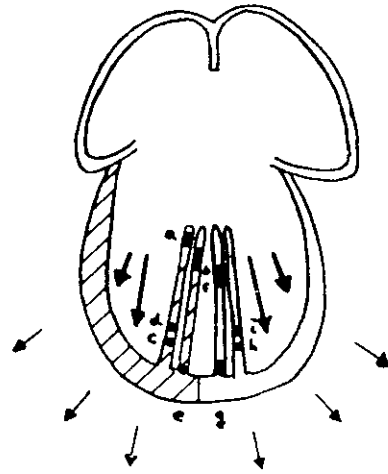
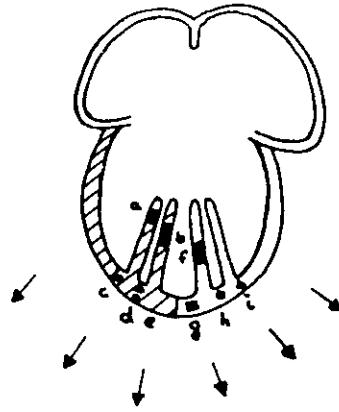
En el ápex o curvatura externa del asa bulboventricular se observa una coalescencia de algunas de las trabéculas primitivas; éste es el primer esbozo de separación entre las bolsas trabeculares ventriculares, denominado primordio del primitivo *septum interventriculare*. El origen del primitivo *septum interventriculare* es discutido. Para unos, se originaría a partir de un proceso de coalescencia o fusión trabecular (HOCHSTETTER, 1906; MURRAY, 1919; KRAMER, 1942; PATTEN, 1951; HARH y PAUL, 1975; MORSE, 1978; BEN-SHACHAR y col., 1985; ARCILLA, 1986). Para otros, se originaría como consecuencia del crecimiento centrífugo de las bolsas trabeculares ventriculares (TANDLER, 1912; FRAZER, 1931; CHANG, 1932; STREETER, 1942 y 1948; GOOR y col., 1970 y 1975; de la CRUZ, 1972; RYCHTER y RYCHTEROVA, 1981; WENINK, 1981; GIMENEZ RIBOTTA y col., 1984). En el primer caso, se trataría de un crecimiento activo y centrípeto. En el segundo caso, sería pasivo y centrífugo.

Para GIMENEZ RIBOTTA y col. (1984) el proceso continuado de la diverticulización miocárdica, conjuntamente con el

crecimiento centrífugo de las bolsas trabeculares ventriculares, hacen más aparente aún el primitivo *septum interventriculare*, que se extiende por la pared ventral del asa bulboventricular, hasta el punto de convergencia del borde ventral del espolón bulboventricular con el cojinete endocárdico superior y, por la pared dorsal del ventrículo primitivo, hasta el tubérculo derecho del cojinete endocárdico inferior. Conforme crecen las bolsas trabeculares, sus paredes externas apicomediales se van aproximando entre sí, adosándose y, al final, fusionándose, lo que aumenta considerablemente el tamaño del primitivo *septum interventriculare*. El crecimiento de cada bolsa trabecular es diferente, siendo desde el principio mayor el de la bolsa trabecular izquierda, lo que determina que el primitivo *septum interventriculare* sea mayor por su superficie izquierda que por la derecha. El primitivo *septum interventriculare* junto con los cojinetes del canal auriculoventricular van a separar las porciones de entrada y trabeculada del ventrículo izquierdo de las del ventrículo derecho. En esta etapa del desarrollo, los ventrículos están ampliamente comunicados entre sí, a través del foramen interventricular primario, limitado: cefálicamente, por los cojinetes del canal auriculoventricular aún no fusionados; cefaloventralmente, por el espolón bulboventricular; y, caudalmente, por el borde libre del primitivo *septum interventriculare*.

HARH y PAUL (1975) sostienen que las dos partes que constituyen la porción muscular del *septum interventriculare* tienen un origen común, desarrollándose a partir de un proceso de fusión trabecular (Fig. 4). De este modo, la pared lisa se forma por la fusión de las terminaciones finales de las

Figura 4. — Representación esquemático de la agregación trabecular y del crecimiento descendente de la trabécula. Obsérvese la interrelación entre las células marcadas (Símbolos negros). (Tomado de HARH y PAUL, 1975).



trabéculas, mientras que la porción trabeculada se forma por la fusión de las porciones basales de las trabéculas. BEN-SHACHAR y col. (1985), y ARCILLA (1986) corroboran el hecho de que el tabique muscular interventricular se desarrolla por la fusión de trabéculas más que por la elevación de la pared libre ventricular, iniciándose el proceso de fusión en el E 26 HH y completándose más o menos en el estadio 30 HH.

DOR y col. (1989) piensan que la teoría de la coalescencia trabecular así como la de la expansión, ventricular más que contradecirse, coinciden en dos puntos: la expansión de los ventrículos y el defecto de expansión interventricular. Sus observaciones van a corroborar la teoría de la coalescencia trabecular. Así, observan como el *septum* resulta de la unión de cuatro a cinco trabéculas sagitales grandes. El *septum* crece con el ventrículo primitivo, creciendo en altura a medida que se expanden los ventrículos. Durante su crecimiento, el *septum* se desplaza hacia la izquierda alineándose con los cojines mediales auriculoventriculares. Se va a fijar a la izquierda del orificio auriculoventricular derecho, permitiendo la desembocadura de dicho orificio en el ventrículo derecho. Este desplazamiento hacia la izquierda va a tensar las trabéculas transversales fijadas por su cara derecha, y abre ampliamente la cavidad del ventrículo derecho a la corriente sanguínea. Así pues, esta migración va a favorecer el desarrollo de las trabéculas y del ventrículo derecho. Se desplaza más en su periferia que en su centro. Adquiere una forma curva, cóncava hacia la izquierda. Por su centro es contenido en la izquierda por la circulación del ventrículo izquierdo y en la derecha por las trabéculas septoparietales. La migración septal es seguida

de una migración conal que acentúa el desplazamiento ventral del *septum* y del *foramen*. El *conus cordis*, situado a la derecha, se hace ventral. Esta migración permite al ventrículo izquierdo desembocar en la parte izquierda del *conus*. El *foramen* deja de ser interventricular para hacerse intraventricular izquierdo.

La migración del *septum* y del *conus* probablemente esté ligada a crecimientos diferenciales. Así, el ventrículo derecho crece más en anchura que el izquierdo y presenta una pared dorsal más engrosada que su pared ventral.

Para DOR y col. (1989) la migración conal se debe principalmente a la desaparición de la pared ventral de la curvatura menor del asa bulboventricular, persistiendo su pared dorsal.

La formación del polo arterial del corazón es uno de los eventos morfogénéticos más estudiados y, probablemente, uno de los que más controversia ha suscitado, sin que hasta la fecha se haya alcanzado un consenso general. Esta falta de acuerdo se ha originado por diversos factores, entre los que destacan los diferentes modelos utilizados, la extrapolación de las observaciones de un modelo biológico a otro y las restricciones impuestas por el uso de una metodología inadecuada. Esta situación, ya de por sí caótica, ha sido agravada por el empleo de una terminología muy poco convencional, que ha llevado a que diferentes nombres sean utilizados para una misma porción del corazón, y en otras ocasiones, que un mismo término sea utilizado para diferentes regiones del mismo.

ORTS-LLORCA y col. (1982) consideran que el polo arterial está constituido por dos porciones totalmente independientes: el

truncus arteriosus y el *bulbus cordis* (también denominado *conus cordis* e *infundibulum* por otros autores). Nosotros hablaremos de "*truncus arteriosus*" y de "*conus cordis*". Ambas porciones están separadas por las válvulas sigmoideas o semilunares. El desarrollo, estructura y tabicación del *truncus* es totalmente independiente de la del *conus cordis*. En el corazón adulto, el *truncus* va a dar lugar a la aorta ascendente y al tronco de la arteria pulmonar, y el *conus cordis* al tracto de salida de ambos ventrículos. La tabicación del *truncus arteriosus* y del *conus cordis* se realiza de tal forma que: la arteria pulmonar conecta el sexto arco aórtico (situado dorsalmente y a la izquierda) con el infundíbulo ventricular derecho (situado ventralmente y a la derecha); la arteria aorta conecta el cuarto arco aórtico (situado ventralmente y a la derecha) con el infundíbulo ventricular izquierdo (situado dorsalmente y a la izquierda).

Los tratados clásicos de embriología describían la septación del *truncus arteriosus* y del *conus cordis* como un proceso único, que comienza cranealmente entre el cuarto y sexto arco aórtico progresando en dirección caudal.

KRAMER (1942) pronto comprobó que no existe continuidad entre las crestas del *truncus arteriosus* y del *conus cordis*; la interrupción entre ambos se encuentra inmediatamente caudal a la región en que se forman las valvas sigmoideas.

GRANT (1962) manifestó que la septación del *truncus arteriosus* es un proceso independiente al de la septación del *conus cordis*, puesto que las crestas del *truncus arteriosus* nunca se fusionan con las del *conus cordis*.

Para JAFFEE (1967) el *septum aorticopulmonare* se desarrolla entre los días 3 y 7 de incubación. Se eleva a modo de espuela

entre el cuarto y sexto arco aórtico dirigiéndose hacia el corazón en dirección contraria a la del flujo sanguíneo, a diferencia de otros tabiques cardíacos que se desarrollan en la misma dirección (PATTEN, 1960; JAFFEE, 1963a). Observa que la septación del tracto de salida arterial se produce entre dos corrientes sanguíneas de igual calibre. El hallazgo de una corriente izquierda de menor calibre seguida de estenosis aórtica (JAFFEE, 1964 y 1966a) sugiere que la posición del *septum aorticopulmonare* está determinada por los calibres de ambas corrientes.

DE LA CRUZ y col. (1972) describen dos engrosamientos o rodetes endocárdicos troncoconales que se desarrollan a lo largo del eje longitudinal del troncocono a nivel de la separación entre el cuarto y sexto arco aórtico, de tal forma que la cresta sinistroversal del *conus cordis* se continua con la cresta dextrodorsal del *truncus arteriosus*, mientras que la cresta dextrodorsal del *conus cordis* se continua con la cresta sinistroversal del *truncus arteriosus*, produciendo una rotación del tabique troncoconal de 180° en sentido horario.

Para DOR (1976) la doble circulación que se establece en el polo arterial es la causa de las torsiones y septación que se producen en esta región.

PEXIEDER (1978) describe dos pares de rodetes bulbares proximales y distales. Los rodetes bulbares distales (rodetes o crestas truncales para otros autores) aparecen al tercer día de incubación y están orientados en un plano más o menos sagital. Entre el final del tercer día y comienzo del cuarto aparecen los rodetes bulbares proximales en un plano más o menos frontal. Durante el quinto día, el rodete bulbar proximal derecho se

fusiona con el rodete bulbar distal ventral, y el rodete bulbar proximal izquierdo con el rodete bulbar distal dorsal. No cree que exista rotación a nivel bulbar, sino que los rodetes bulbares proximales y distales se sitúan en planos distintos dando idea de rotación al unirse.

Según LAANE (1978) el *truncus arteriosus* es parte integrante del corazón y se divide en dos partes: *truncus myocardalis*, en el que la matriz extracelular da lugar a las crestas truncales; y *truncus mesenquimalis*, en el que se sitúa el *septum aorticopulmonare*. El *septum aorticopulmonare* aparece entre el cuarto y sexto arco aórtico creciendo en dirección proximal y continuándose con dos columnas de células mesenquimales situadas a derecha e izquierda, que se introducen entre las crestas del *truncus myocardalis*. Así, la columna derecha se sitúa entre la cresta distal dorsal derecha, y la columna izquierda entre la cresta distal ventral y la cresta distal dorsal izquierdas. Posteriormente sufren un proceso de rotación en sentido horario.

RYCHTER (1978) sostiene que el crecimiento del *truncus arteriosus* y del *conus cordis*, que doblan su longitud entre el segundo y quinto día de incubación, no puede ser debido a la proliferación celular. Va a ser el mesénquima situado en la base de la porción anterior de los sextos arcos aórticos (porción adyacente al primordio pulmonar) el que participa en la septación truncal y crecimiento del *conus cordis*.

Por el contrario, para THOMPSON y FITZHARRIS (1979a, 1979b, 1985) el mesénquima del troncocono deriva de dos porciones diferentes: de los arcos aórticos proximales a la porción distal del *truncus arteriosus*; del endocardio que invade el cono y porción proximal del *truncus arteriosus* coincidiendo con la

expansión del *conus cordis*. Este mesénquima troncoconal va a intervenir en la formación de las válvulas semilunares, *septum aorticopulmonare* y túnica media de las grandes arterias.

STEDING y SEIDL (1980) niegan, al igual que PEXIEDER (1978) y ORTS-LLORCA y col. (1981 y 1982), que existan procesos de rotación a nivel conal en el corazón embrionario de pollo.

Hoy se sabe que el *truncus arteriosus* y el *conus cordis* son dos entidades embriológicas diferentes (DE LA CRUZ y col., 1977; ORTS- LLORCA y col., 1981, 1982).

DE LA CRUZ y col. (1977) llevan a cabo un estudio mediante técnicas de marcaje *in vivo* en embriones comprendidos entre los estadios 9- al 35 de HH, con el fin de aclarar el estadio de aparición del *conus cordis* y del *truncus arteriosus*, su evolución durante el desarrollo, y sus manifestaciones anatómicas en el corazón maduro. Así, observan: 1) En el E 9- de HH tiene lugar la fusión de los primordios cardíacos a nivel del primordio de la porción trabeculada del ventrículo derecho, momento en el que no se encuentran presentes ni el *truncus arteriosus* ni el *conus cordis* 2) En el E 12 de HH (estadio de asa) aparece la porción caudal del *conus cordis*, constituyendo el extremo cefálico del tubo cardíaco. 3) El *truncus arteriosus* estadios 13 y 22 de HH. 4) En el E 22 de HH la unión angular entre el *conus cordis* y el *truncus arteriosus* se corresponde con la zona en la que las cúspides de las valvas semilunares de las grandes arterias van a desarrollarse. En este mismo estadio, la unión entre el *conus cordis* y la porción trabeculada del ventrículo derecho vista desde la superficie derecha se corresponde con el extremo inferior de la cresta supraventricularis. 5) Corroboran el que las cúspides de las valvas semilunares de la pulmonar se originan a partir de

la pared del *truncus arteriosus*. 6) El desarrollo del *truncus arteriosus* y del *conus cordis* es similar en el pollo y en el hombre. 7) Histológicamente, en el pollo, la pared del *truncus arteriosus* y del *conus cordis* contiene músculo cardíaco todavía en el E 28 de HH, pero a partir de este estadio en las paredes del *truncus arteriosus* se va a transformar en tejido conectivo y músculo liso.

El *truncus arteriosus* es la porción del saco aórtico que se ha invaginado en el interior de la cavidad pericárdica. Presenta una estructura histológica similar a la de los vasos periféricos, sin engrosamientos endocárdicos ni miocardio. El *truncus arteriosus* crece en longitud, a diferencia del *conus cordis*, continuándose con los arcos aórticos derechos e izquierdos (sobre todo tercero, cuarto y sexto) sujetos a la cara ventral de la faringe, por lo que no puede rotar. La tabicación del *truncus arteriosus* es extrínseca; el mesénquima peribranquial arrastrado por la invaginación del saco aórtico avanza en dirección caudal. Esto es debido a factores hemodinámicos (ORTS-LLORCA y col., 1981, 1982).

La cresta neural cefálica, además de dar lugar a estructuras nerviosas, va a contribuir a la formación del mesénquima cefálico. Este, frecuentemente es denominado "ectomesénquima" como consecuencia de su origen ectodérmico. La expansión del ectomesénquima proporciona la mayor parte del mesénquima de los arcos branquiales. El segmento de cresta neural adyacente a los tres primeros pares de somitos occipitales contribuye a la formación del *septum aortico pulmonare* y ha sido denominado "cresta neural cardíaca". El ectomesénquima

de la cresta neural cardíaca contribuye a la formación de la túnica media de la arteria aorta, arteria pulmonar y otros derivados de los arcos aórticos. El endotelio de los arcos aórticos deriva del mesénquima mesodérmico; el resto de la pared deriva del ectomesénquima (KIRBY y col., 1983, 1985; KIRBY y BOCKMAN, 1984; DOMENECH, 1986; ROSENQUIST y col., 1988; BOCKMAN y col., 1989).

Así pues, el tracto de salida, incluida la arteria pulmonar y la arteria aorta, crece a partir de células procedentes del mesénquima de los arcos branquiales y de la cresta neural. La migración de estas células extracardiácas hacia el corazón proporciona una tercera parte de la masa cardíaca.

Para DOMENECH (1986) del tercio medio del *bulbus cordis* (*Conus cordis* o región conal) derivan los tractos de salida de ambos ventrículos. En el *conus cordis* se distinguen dos orificios: uno distal, a través del cual se comunica con el *truncus arteriosus* y otro proximal, a través del cual, en los primeros estadios del desarrollo, se comunica con la porción caudal del *bulbus cordis* (ventrículo anatómicamente derecho). Así pues, en la fase de asa, al ventrículo primitivo (ventrículo anatómicamente izquierdo) le falta la cámara de salida. Las crestas bulbares, dextrodorsal y sinistroversal, comienzan a formarse en la unión del *truncus arteriosus* con el *bulbus cordis*, donde aparecen los primeros esbozos de las válvulas semilunares. Desde este punto, progresan en dirección proximal hacia la porción trabeculada del ventrículo derecho. Las crestas bulbares terminan fusionándose y dividen al *conus cordis* en una región conal anterolateral (futuro infundíbulo pulmonar) y otra posteromedial (futuro infundíbulo aórtico). La región conal

anterolateral mantiene siempre su relación con el *bulbus cordis* y se constituye en el infundíbulo o cámara de salida del ventrículo derecho. De manera más compleja se constituye la región infundibular del ventrículo izquierdo; la región conal posteromedial debe ser transportada al ventrículo primitivo y como resultado de un buen alineamiento entre el *septum conale* y el *septum interventriculare* y del cierre del *foramen secundum interventricularis*, el ventrículo primitivo adquiere su cámara de salida.

GOOR y col. (1972) al igual que DOR y col. (1973) distinguen tres procesos principales a través de los cuales se establece la conexión de los infundíbulos aórtico y pulmonar con los ventrículos izquierdo y derecho respectivamente: la migración, la tabicación y la absorción del *conus cordis*. Por la migración, el orificio proximal conectado con el *bulbus cordis* y ocupando una posición dorsal queda comunicado también con el ventrículo primitivo y se sitúa en posición ventral. Por la tabicación, el *conus cordis* queda dividido en dos tractos de salida, uno anterior que emerge del ventrículo derecho y otro posterior que lo hace del ventrículo izquierdo. La tabicación se realiza de forma espiroidea en un giro de 180, de modo que el vaso anterior se dirige hacia atrás, quedando conectado con el sexto arco aórtico (conducto pulmonar), mientras el vaso posterior se dirige hacia delante conectando con el cuarto arco aórtico (conducto aórtico). Finalmente, mediante la absorción, el *conus cordis* es englobado por otras estructuras cardíacas, especialmente por el ventrículo derecho.

Durante el estadio 29 HH (6-6½ días) se produce la

alineación de los elementos septales que participarán en el cierre definitivo de la comunicación interventricular.

Para DE LA CRUZ y col. (1972) la desaparición de la "pestaña" conoventricular permite el desplazamiento del troncocono hacia la línea media y la alineación del tabique troncoconal con el primitivo *septum interventriculare*. El ventrículo izquierdo adquiere de este modo la cámara de salida que le falta en estadios previos. Por otro lado, el canal auriculoventricular se ensancha hacia la derecha, de tal forma que los cojinetes endocárdicos se alinean con el primitivo tabique interventricular. De esta forma, la aurícula derecha conecta con el ventrículo derecho y éste adquiere su cámara de entrada. PEXIEDER (1978) propone que para que se establezca la continuidad entre la aorta y el ventrículo izquierdo es necesario que se produzca la absorción del conus por parte del ventrículo. Por el contrario, STEDING y SEIDL (1980) niegan que se produzca la absorción del cono. En un trabajo posterior PEXIEDER y CHRISTEN (1981) afirman que la absorción conal puede tratarse más bien de una ilusión óptica e interpretativa que de una realidad.

En este estadio el proceso de septación es casi completo. Únicamente persiste una pequeña comunicación interventricular que se cerrará por la confluencia del primitivo *septum interventriculare*, cojinetes endocárdicos y de los rodetes bulbares, constituyendo la porción membranosa del *septum interventriculare*. El cierre de esta comunicación interventricular (DE LA CRUZ y col., 1972) se produce: caudalmente, por el *septum interventriculare*, los cojinetes endocárdicos del canal auriculoventricular en la región basal

y dorsal, y el tabique troncoconal en las porciones basal y ventral. Sin embargo, la opinión de los distintos investigadores varía respecto a la proporción e importancia de los elementos que toman parte en el cierre de la comunicación interventricular (WENINK, 1971, 1974; ORTS-LLORCA y col., 1981). El cierre definitivo del *septum interventriculare* se produce en el E 32 HH (7½ días).

En el E 29 HH se produce la aparición de los primeros esbozos de las *válvulas sigmoideas* aórtica y pulmonar en el plano que separa al *truncus arteriosus* del *bulbus cordis*.

Para DE LA CRUZ y col. (1977) estas *válvulas* derivan del *truncus arteriosus*. Por el contrario, para PEXIEDER (1979) las *válvulas sigmoideas* se desarrollan a partir de la porción más distal de los rodetes bulbares distales y no de sus porciones proximales.

HURLE (1979), HURLE y COLVEE (1983) sostienen que mientras se está formando el tabique del *truncus arteriosus* aparecen, en el interior de ambas porciones del *truncus arteriosus*, unos abultamientos de tejido mesenquimal que constituyen los primordios de las *válvulas sigmoideas* aórtica y pulmonar. Dichos abultamientos se extienden desde la porción media del *truncus arteriosus* hasta su extremo distal, pudiéndose distinguir seis primordios valvulares: cuatro en el tabique del *truncus arteriosus* (dos en su superficie derecha y dos en la izquierda) y dos en las paredes libres del *truncus arteriosus*; estos últimos son denominados "cojines intercalares". De esta forma, quedan tres primordios valvulares en la porción derecha del *truncus arteriosus* y tres en la porción izquierda, todos ellos

situados al mismo nivel. Los primordios de las válvulas sigmoideas, en un principio, son engrosamientos sólidos de tejido mesenquimal, con una forma más o menos piramidal y con su vértice dirigido hacia la luz del *truncus arteriosus*. Más tarde, su porción distal se comienza a excavar y adelgazar, adoptando progresivamente la forma de una bolsa con una cara distal o arterial y una cara proximal o ventricular, tomando la forma grosera de una válvula sigmoidea. El proceso de excavación es similar en las diferentes valvas y progresa con gran rapidez hasta que las sigmoideas adquieren su morfología definitiva, en forma de nido de golondrina, situándose las sigmoideas aórticas por detrás y a la derecha de las pulmonares. Así pues, consideran tres períodos en la formación de las válvulas sigmoideas: 1) se produce un crecimiento de tres pares de crestas en el extremo proximal del *truncus arteriosus*, que surgen de la emigración y condensación de células mesenquimales. Este primer período se inicia en los estadios 26-27 HH y termina en el E 29 HH; 2) se produce una excavación de la porción distal de las cúspides entre los estadios 30-35 HH; 3) se produce la diferenciación histológica a partir del E 36 HH.

TAKAMURA y col. (1990) mediante el empleo de quimeras pollo-codorniz estudian si las células de la cresta neural están relacionadas con la formación de las válvulas sigmoideas, comprobando que dicha relación existe.

La morfogénesis cardíaca se completa con el desarrollo de los **arcos aórticos**. Los arcos aórticos son formaciones vasculares que discurren por el mesénquima de los arcos branquiales craneal a la bolsa faríngea correspondiente y que

comunican al saco aórtico con las aortas dorsales del embrión. Los vertebrados primitivos tienen seis o más arcos aórticos, pero el 5º arco falta en las aves. Teóricamente, se forman seis pares de arcos aórticos, aunque en realidad el quinto par nunca se desarrolla por completo, desapareciendo con gran rapidez; describen una curva alrededor del intestino anterior y sólo se presentan en etapas tempranas del desarrollo embrionario, modificándose constantemente a través de la degeneración de ciertos vasos y el crecimiento diferencial de determinadas porciones de otros. Estas arterias se forman sucesivamente y nunca coinciden en el tiempo los cinco pares de arcos. La transformación de los arcos aórticos conduce a la formación de las arterias carótidas, pulmonares, subclavias y porción torácica de la aorta.

PEXIEDER (1969a) estudia el destino de los arcos aórticos. El primer arco aórtico comienza a formarse en el segundo día de incubación, para desaparecer transformándose en capilares entre los 3 días y 3 días 8 horas de incubación. El segundo arco aórtico comienza a formarse en el segundo día de incubación, para desaparecer del mismo modo que el primero entre los 3 días 16 horas y 4 días. El tercer arco aórtico aparece a los 2 días 8 horas de incubación, dando lugar a la arteria carótida a los 6 días 8 horas, después de la interrupción del *ductus carotideo*. Los tres primeros arcos aórticos presentan una formación similar.

El cuarto arco aórtico aparece por primera vez a los 2 días 8 horas de incubación, adquiriendo su forma definitiva a los 3 días 8 horas. Su rama izquierda experimenta un estrechamiento proximal al *truncus arteriosus* entre los 5 días 8 horas y 5 días

16 horas, transformándose en una cuerda sólida entre los 6 días y 6 días 8 horas, considerándose a partir de este momento que no existe como tal el cuarto arco aórtico izquierdo.

El quinto arco aórtico aparece, predominantemente en el lado derecho, a los 3 días 8 horas de incubación, en la concavidad del sexto arco aórtico, completándose su desarrollo a los 4 días y desapareciendo a los 4 días 8 horas.

Los primeros brotes del sexto arco aórtico se observan por primera vez a los 3d de incubación, completando su desarrollo a los 4 días, antes en su rama izquierda que en su rama derecha.

HAMILTON (1952) observa como la prolongación anterior de la aorta dorsal a partir del tercer arco aórtico constituye la carótida interna. Los extremos ventrales del primer y segundo arco aórtico forman la carótida externa. De este modo, durante el inicio del quinto día de incubación se ha formado la serie completa de arcos aórticos, y han desaparecido el primero, segundo y quinto arco aórtico. Los arcos resultantes son: el tercero o arco carotideo, el cuarto o arco aórtico y el sexto o arco pulmonar. Durante este día el desarrollo es simétrico a ambos lados del cuerpo del embrión. A lo largo del quinto y sexto día se observa una asimetría: el cuarto arco aórtico disminuye en el lado izquierdo y se alarga en el derecho. Esto parece ser debido principalmente a fuerzas mecánicas asociadas con el desarrollo del cuello y la torsión cardíaca. Estos factores también parecen ser los responsables de la reducción de la aorta dorsal entre los extremos superiores de los arcos aórtico y carotideo, que terminará obliterándose como consecuencia de una circulación cada vez menor. El descenso del corazón va a determinar que los cuartos arcos lleguen a situarse

dentro de la cavidad pericárdica. La rotación que experimenta el corazón va a dar lugar a un nuevo sistema de fuerzas que remodela los patrones de circulación y determina la obliteración del cuarto arco aórtico izquierdo (BREMER, 1927/1928).

En el día ocho, los cambios iniciados en el sexto arco aórtico se completan: desaparece el arco aórtico izquierdo, y la conexión entre los extremos superiores de los arcos aórticos y carótida desaparece en ambos lados. Por otra parte, el extremo del arco pulmonar (*ductus arteriosus*) se ha desarrollado en ambos lados; las arterias pulmonares presentan un reducido calibre puesto que la función principal del arco pulmonar durante la vida embrionaria es encauzar la sangre hacia la circulación sistémica, es decir, tanto el corazón derecho como el corazón izquierdo van a bombear sangre a la aorta dorsal. Tras el nacimiento, se ocluyen los *ductus arteriosus* y se establece la circulación pulmonar.

Los septos que separan unos arcos de otros son mesenquimales y están cubiertos por endotelio. Tienen forma de cresta libre y surgen desde la parte dorsal, donde se sitúa la aorta dorsal, hacia la parte ventral, donde las arterias surgen del saco aórtico. El desarrollo de estos septos se produce como consecuencia de la vascularización de los arcos branquiales o viscerales, y su posición, conexión y extensión, juegan un importante papel en las anomalías de los arcos aórticos (SEIDL y STEDING, 1981).

NODEN y LAHUNTA (1990) establecen la siguiente secuencia en la transformación de los arcos aórticos en la disposición arterial definitiva: 1) Los arcos aórticos 1º y 2º degeneran tras un corto período funcional, poco después de la formación de los

arcos 3º y 4º. Sin embargo persisten las porciones de las aortas dorsales relacionadas con los arcos 1º y 2º para formar las **arterias carótidas internas**. 2) Los segmentos de cada aorta dorsal situados entre el 3º y 4º arco, degeneran. Este hecho convierte a los arcos terceros en la principal vía arterial desde el corazón a la cabeza y, de igual modo, a los cuartos arcos para el tronco. Los tramos de las aortas dorsales que se extienden desde los cuartos arcos aórticos y se unen para formar la aorta única, se llaman ahora **raíces aórticas dorsales**. Coincidiendo con el desarrollo de las diferentes estructuras de la cara se origina para la vascularización de las mismas un vaso de la parte proximal de cada tercer arco que será la **arteria carótida externa**. 3) Cada 6º arco aórtico va a dar lugar a una **arteria pulmonar**. 4) Como ramas de ambas aortas dorsales se originan sendas series de **arterias intersegmentarias dorsales cervicales**. Inicialmente estas pequeñas arterias segmentarias crecen dorsalmente entre los somitos; poco después cada una de ellas se divide en una rama para las estructuras dorsales y otra para las ventrales. En la región cervical las ramas dorsales se anastomosan entre sí, formando un vaso longitudinal a cada lado del embrión que será la **arteria vertebral**. Una vez formada la arteria vertebral, degeneran todas las arterias intersegmentarias cervicales menos la última que suele ser la 7ª; esta arteria intersegmentaria persistente en ambos lados penetra en el esbozo de los miembros torácicos y formará la parte distal de la **arteria subclavia**.

SUMIDA y col. (1991) llevan a cabo un estudio inmunohistoquímico sobre la posible relación existente entre la distribución de la fibronectina y la obliteración de los arcos

arteriales en el embrión de pollo. Observan como la fibronectina no se acumula alrededor del 4º arco arterial izquierdo durante la formación de los arcos aórticos y proponen la posibilidad de que la escasa cantidad de fibronectina es la responsable de la obliteración del 4º arco arterial izquierdo.

Para terminar, describiremos brevemente la formación del epicardio, así como el de los vasos coronarios en el embrión de pollo.

El epicardio no deriva del miocardio, por lo que el empleo del término "epimiocardio" en los primeros estadios del desarrollo embrionario del corazón no es correcto (MANASEK, 1969a). El epicardio se forma por expansión de grupos de células mesoteliales originadas en la región dorsal del *septum transversum* o en la pared proximal del seno venoso, que se extienden cubriendo por completo el corazón (HIRAKOW, 1986).

HIRUMA y col. (1989) identifican el origen del epicardio en una serie de protuberancias de grupos de células mesoteliales que se forman en el lado derecho de la superficie externa del seno venoso en embriones de 23 somitos (E 14+ HH). Estas protuberancias alargadas van a dar lugar a varios procesos vellosos, cuyos extremos alcanzan finalmente la pared dorsal del corazón embrionario de 30 somitos (E 17 HH). A partir de estos puntos de adhesión, las células mesoteliales se extienden gradualmente entre las células miocárdicas en todas las direcciones formando una cubierta monocapa. De este modo, hacia el E 23 HH, el ventrículo se encuentra completamente revestido de epicardio, y estructuras similares a islotes sanguíneos aparecen en el interior de la capa subepicárdica. La aurícula

no se recubre de epicardio hasta el E 25 HH, y el extremo distal del *bulbus cordis* en el E 27 HH.

Este epicardio primitivo es el presunto pericardio visceral. Antes de que finalice la migración epicárdica, se va a formar una delgada capa de material extracelular en el espacio epimiocárdico. Este espacio aumenta siendo invadido por una población de células mesenquimales. Las células mesenquimales subepicárdicas tienen forma de huso o estrelladas, y están rodeadas de matriz constituida por fibras de colágeno y material amorfo y fibrilar, estableciendo contacto con ambas capas, con otras células mesenquimales y con la matriz extracelular (ICARDO y col., 1990). El origen de estas células no está claro. VIRAGH y CHALLICE (1981) proponen que proceden del seno transversal, dorsal al corazón. Sin embargo, también es posible que deriven por un proceso de delaminación del epicardio (ICARDO y col., 1990)

FRANSEN y col. (1990) comprueban en el anfibio (*Ambystoma mexicanum*) lo observado en el embrión de ave y de mamífero; efectivamente el epicardio deriva del tejido mesotelial que reviste al seno venoso.

Durante las primeras fases del desarrollo los requerimientos metabólicos de los miocitos son cubiertos a través de los espacios intertrabeculares o sinusoides. La sangre, más que circular, se mueve por difusión (RYCHTER y OSTADAL, 1971). El desarrollo de los capilares coronarios va a proporcionar un sistema mucho más eficaz que el de los sinusoides. Capilares y sinusoides van a coincidir en el corazón embrionario por cierto tiempo. Se han descrito algunas conexiones entre ambos sistemas. Más adelante, una vez que se produce la compactación de la pared

miocárdica, desaparecen los espacios intertrabeculares permaneciendo el sistema coronario como el único aporte sanguíneo del corazón (TOKUYASU, 1985).

En sus inicios el lecho vascular coronario está constituido por un rudimentario plexo vascular localizado en el espacio subepicárdico (HIRAKOW, 1983). El plexo subepicárdico parece que se desarrolla *in situ* por la reorganización de las células mesenquimales subepicárdicas que constituyen los pequeños canales vasculares conectándose unos con otros. También se ha propuesto que el plexo proviene del endocardio ventricular (VIRAGH y CHALLICE, 1981). El plexo subepicárdico va a terminar contactando con los capilares intramiocárdicos por un lado y con los troncos arteriales principales originados de los senos aórticos derecho e izquierdo por otro. Al mismo tiempo, los vasos subepicárdicos se transforman en las ramas coronarias (ICARDO y MANASEK, 1992).

II. MECANISMOS RESPONSABLES DEL DESARROLLO CARDÍACO: FACTORES HEMODINAMICOS

La mayoría de los defectos cardíacos congénitos son debidos a alteraciones producidas durante el desarrollo del corazón. Sin embargo, se sabe muy poco sobre los mecanismos responsables del desarrollo cardíaco.

Aunque los cambios producidos en la forma y configuración del corazón a lo largo del desarrollo se conocen, el estudio de los mecanismos responsables del desarrollo cardíaco se ha iniciado recientemente. Un conocimiento de estos mecanismos es la clave para comprender la relación entre los factores etiológicos y las anomalías anatómicas. El crecimiento celular diferencial, muerte celular, migración celular, proliferación de la matriz extracelular y función hemodinámica, son cinco mecanismos del desarrollo que, tanto individualmente como combinados, son probablemente responsables de la patogénesis de numerosos defectos cardíacos congénitos.

Analizaremos brevemente los cuatro primeros mecanismos del desarrollo citados para pasar a analizar con más detenimiento la influencia de la función hemodinámica sobre el desarrollo cardíaco, objetivo principal de nuestras investigaciones.

1.- Crecimiento celular diferencial.

Los clásicos estudios sobre el índice de replicación celular en el corazón conllevan al estudio del "índice celular mitótico" (ROMANOFF, 1960). Este índice es igual al número de células con actividad mitótica por cada cien células contadas.

Los primeros estudios realizados por OLIVO y SLAVICH (1930) demostraron que el índice mitótico era más alto durante el período de formación del asa cardíaca para ir disminuyendo progresivamente durante el resto de la morfogénesis. Estos estudios, sin embargo, no eran específicos de tejido.

GROHMAN (1961) calculó el índice mitótico de tres áreas de tejido específicas: miocardio ventricular, *septum interventriculare* y miocardio auricular. Observó que el número de células activas variaba de un área a otra, alcanzando el punto más alto en el día cuatro de incubación a nivel ventricular y un día más tarde a nivel auricular.

PASCHAUD y PEXIEDER (1981), mediante técnicas de marcaje radioactivo, estudiaron el índice de proliferación celular en el tracto de salida del embrión de pollo. Observaron el mayor índice en el tejido endocárdico y mesenquimal dentro de los límites de los cojines bulbares. La mayor incorporación del marcador radioactivo se producía paralelamente a la aparición de los cojines proximal y distal del tracto de salida. Aunque estos estudios identifican áreas de elevada actividad proliferativa que coinciden con el crecimiento de los cojinetes endocárdicos, no está claro cómo la división celular se relaciona con los cambios morfológicos.

2.- Muerte celular.

La muerte celular es un proceso que se produce ampliamente durante el desarrollo cardíaco observándose en: la fusión del tubo endocárdico primitivo, formación de la pared miocárdica, de las arterias aorta y pulmonar y en la de las válvulas sigmoideas.

MANASEK (1969b) estudia la muerte de las células miocárdicas en el corazón embrionario de pollo. Comprueba que se trata de un proceso raro y no se observa antes del día cuatro de incubación.

PEXIEDER (1972) analiza morfológica y topográficamente, los fenómenos de muerte celular en el corazón embrionario de pollo. Observa que el mayor número de células en fase de degeneración se produce a nivel del bulbus y de los rodetes bulbares en el día cuatro de incubación. El mayor número de focos degenerativos diferentes se observa en el día seis de incubación. A partir del día diez disminuye el número de focos degenerativos y de células en degeneración.

PEXIEDER (1975) lleva a cabo un estudio sistemático de la localización de los focos de muerte celular en la superficie endocárdica del corazón embrionario de pollo comparándolo con corazones embrionarios de rata y humano. También analiza los efectos de los agentes hemodinámicos y teratógenos sobre la localización e intensidad de la muerte celular *in ovo* e *in vitro*. Los focos de muerte celular se localizan en el endotelio de los cojinetes del canal auriculoventricular, rodetes del *bulbus cordis* y en la pared de las arterias pulmonar y aorta. Observa variaciones en la localización de los focos de muerte celular

en el corazón de pollo desarrollado *in vitro*. Propone que el flujo sanguíneo puede tener un efecto modulador sobre la posición de las células en fase de degeneración, aunque efectos extraños, incluido el carácter artificial del medio de cultivo, pueden influir.

OJEDA y HURLE (1975) estudian los fenómenos de muerte celular durante la formación del tubo cardíaco en el embrión de pollo durante los estadios 9-11 HH. Observan células muertas y en fase de degeneración localizadas, preferentemente, en la línea media de los tubos endocárdicos. No observan diferencias morfológicas con la muerte celular observada en otros tejidos u órganos. Los fagocitos son poco numerosos, por lo que piensan que no son los responsables de la muerte celular. Las células en fase de degeneración y los restos celulares localizados en la matriz extracelular derivan de las células endocárdicas. Proponen que la degeneración celular podría producirse en la matriz extracelular.

OJEDA y HURLE (1985) observan como la muerte celular programada está involucrada en los procesos de fusión de los tubos endocárdicos primitivos.

HURLE y OJEDA (1979) analizan la muerte celular durante el desarrollo del troncocono en el corazón embrionario de pollo, confirmando que la muerte celular está involucrada en la morfogénesis de las raíces de los grandes vasos y tracto de salida de los ventrículos. Observan tres zonas principales de necrosis: capa muscular del troncocono, mesénquima de las crestas troncoconales y *septum aorticopulmonare*. Estas zonas de necrosis se observan claramente en los estadios 25-26 HH alcanzando la máxima intensidad en los estadios 29-32 HH para

ir desapareciendo posteriormente. También se observan zonas de necrosis en los primordios de las válvulas sigmoideas. Concluyen que la muerte y proliferación celular diferenciales están envueltos en todos los desplazamientos que experimenta el troncocono durante los estadios estudiados.

SATOW y col. (1981) estudian la localización de las células en degeneración en los rodetes bulbares del embrión de rata y pollo. Establecen los patrones de muerte celular en embriones normales y los cambios en dicho patrones tras dosis teratógenas de radiaciones ionizantes. Observan focos fisiológicos de muerte celular en las crestas conales del corazón embrionario de rata. Al radiar las ratas preñadas obtuvieron un 85% de fetos con defectos troncoconales, incluidos la doble salida del ventrículo derecho y transposición de los grandes vasos. El análisis de los embriones radiados mostraba un retraso en el inicio de la muerte celular y una disminución en la intensidad de la misma en las regiones de los rodetes bulbares. Proponen que la alteración de los patrones de muerte celular da lugar a un crecimiento anómalo de los rodetes bulbares que conduce a anomalías en el desarrollo.

Aunque es bien sabido que la muerte celular constituye un mecanismo inductor de cambios morfológicos en los diferentes órganos (**SAUNDERS, 1966**), no está claro su papel durante la morfogénesis cardíaca. Algunos investigadores (**SATOW y col., 1981**) proponen que la muerte de algunas células pueda estar determinada genéticamente, mientras que la de otras pueda estar controlada por mecanismos fisiológicos o epigenéticos; así, los experimentos realizados por **PEXIEDER** indican que la muerte celular puede ser el resultado de fuerzas hemodinámicas presentes

en el interior del corazón. Sin embargo, el equilibrio entre muerte celular programada y epigenéticamente determinada está todavía por resolver.

3.- Migración del tejido mesenquimal.

La migración celular va a jugar un importante papel en la morfogénesis. Se sabe poco acerca de los mecanismos celulares y moleculares que la controlan.

Un hecho precoz en el desarrollo cardíaco es la migración del mesodermo precardiaco a través de la línea primitiva para formar los tubos cardíacos (Ver pág. 7 -LINASK y LASH, 1986-). La migración celular es importante al menos en otras dos zonas: septación del polo arterial del corazón y origen del componente celular de los cojinetes eendocárdicos.

RYCHTER (1959) observa que el índice de proliferación celular en el tracto de salida es bajo en el momento en que dobla su longitud dicha región; lo que indica que la proliferación celular no es la única responsable del material acumulado durante el crecimiento del tracto de salida del corazón.

RYCHTER (1978) trata de identificar el origen de este material adicional en el mesénquima peribranchial, que emigra desde la región de los arcos aórticos para contribuir a la formación del *septum aorticopulmonare*. Para ello colocó partículas de carbón en el tejido mesenquimal localizado a lo largo del límite inferior del cuarto y sexto arcos aórticos. Los embriones fueron reincubados y posteriormente fijados y cortados. Proponen que el mesénquima localizado en el base de la porción anterior de los sextos arcos aórticos en el día tres de incubación participaría en la septación truncal.

LE DOUARIN (1982) observa que la cresta neural cefálica,

además de dar lugar a estructuras nerviosas, va a contribuir a la formación del mesénquima cefálico. Este, frecuentemente es denominado ectomesénquima como consecuencia de su origen ectodérmico. La expansión del ectomesénquima proporciona la mayor parte del mesénquima de los arcos branquiales.

Sin embargo, la contribución de la cresta neural cefálica al desarrollo del corazón no se aclaró hasta que KIRBY y col. (1983) intentando conseguir un corazón de pollo denervado extirpando la porción de cresta neural que da lugar al sistema nervioso parasimpático, obtuvieron corazones con anomalías en el tracto de salida. Posteriormente KIRBY y col. (1984, 1985) implantando células de la cresta neural cefálica de codorniz en el embrión de pollo observaron que el ectomesénquima derivado de la cresta neural cefálica contribuye a la formación del *septum aorticopulmonare*.

Hoy se admite que el tracto de salida, incluidas las arterias aorta y pulmonar, se forma a partir de células procedentes del mesénquima de los arcos branquiales y de la cresta neural. La migración de estas células extracardiácas hacia el corazón proporciona la tercera parte de la masa cardíaca.

La otra región del corazón en la que se sabe se produce migración celular es en los cojinetes endocárdicos y rodetes bulbares.

PATTEN y col. (1948) sugirieron que las células mesenquimales presentes en los cojinetes endocárdicos derivaban de la capa endotelial del corazón en desarrollo.

MARKWALD y col. (1977) confirmaron estos hallazgos en embrión de rata y pollo. Las células endocárdicas que revisten

el canal auriculoventricular y el *bulbus cordis* son activadas desarrollando aparatos móviles, emigrando hacia el interior de la matriz extracelular y transformándose en células mesenquimales.

KINSELLA y FITZHARRIS (1980) observaron mediante técnicas cinematográficas que efectivamente las células mesenquimales de los cojinetes endocárdicos se separan del endotelio emigrando hacia la matriz extracelular.

Dos hechos importantes se van a producir en las primeras fases del desarrollo de los cojinetes endocárdicos: 1) un aumento regional en el espesor de la gelatina cardíaca acelular y 2) la invasión de estas masas por células mesenquimales procedentes del endocardio. Se han realizado pocos trabajos sobre los mecanismos responsables de la hipertrofia regional de la matriz. El endocardio que reviste las masas de gelatina cardíaca de los cojinetes endocárdicos se va a activar, migrando células mesenquimales al interior de la matriz (MARKWALD y col., 1977). Estas células pueden valerse de la orientación radial de los filamentos de la matriz extracelular como indicios direccionales en su migración centrífuga (PATTEN y col., 1948). En el momento en que invaden la matriz extracelular de los cojinetes endocárdicos parece ser que se produce un cambio en la composición de los glucosaminoglicanos, reduciéndose la cantidad de ácido hialurónico y aumentando la de condroitín sulfato (MARKWALD y col., 1978). Estudios experimentales realizados *in vitro* indican que el ácido hialurónico y algunos componentes proteicos de la matriz extracelular estimulan al mesénquima para que invada la gelatina cardíaca (BERNANKE y col., 1979; RUNYAN y col., 1983a). Sin embargo, parece ser que es necesario que se

produzca también la maduración en el desarrollo del endocardio (RUNYAN y col., 1983b).

En estos momentos, existen pocas dudas sobre la interacción entre las células de los cojinetes endocárdicos y los componentes de la gelatina cardíaca (FITZHARRIS y col., 1982). Parece claro, que las células de los cojinetes endocárdicos, al igual que otras células migratorias mesenquimales, pueden modificar la composición y organización del medio externo a través del cual se mueven. Sin embargo, el papel concreto que juega la gelatina cardíaca en el desarrollo de los cojinetes endocárdicos está todavía siendo investigado.

Los movimientos de las células embrionarias son muy precisos. Está claro que el medio a través del cual las células se mueven ejerce algún tipo de influencia sobre los procesos migratorios. Sin embargo, no sabemos todavía cómo la matriz extracelular controla la migración celular. El contacto direccional y la quimiotaxis han sido dos mecanismos relacionados con el control de la direccionalidad de la migración celular en los cojinetes endocárdicos (MARKWALD y col., 1979a; MARKWALD y col., 1979b). Además, se ha propuesto que el miocardio crea un gradiente de moléculas que hace a las células de los cojinetes endocárdicos moverse a través de la gelatina cardíaca (KRUG y col., 1987). Sin embargo, la demostración *in vivo* de la existencia de estos mecanismos de control ha sido, al menos, ambigua. Frente a los trabajos que proponen un papel directo de la gelatina cardíaca en la migración de las células de los cojinetes endocárdicos, otros estudios realizados tanto *in vitro* (KINSELLA y col., 1982) como *in vivo* (ICARDO y col., 1984) sugieren que las células de los cojinetes endocárdicos pueden ser

capaces de controlar su propia conducta migratoria. Las células de los cojinetes endocárdicos presentan grandes cantidades de fibronectina asociada a sus superficies (ICARDO y col., 1984). Esta fibronectina es sintetizada por las mismas células durante su migración hacia el miocardio (FRENCH-CONSTANT y col., 1988). Bajo estas condiciones, las células migratorias no necesitan la presencia de fibronectina en la matriz extracelular (DUBAND y col., 1986). La prolongación y retracción de los apéndices migratorios, asociado a la respuesta de otras células y del substrato, pueden efectivamente dirigir la migración de las células de los cojinetes endocárdicos hacia el miocardio (ICARDO y col., 1984). Así pues, la gelatina cardíaca podría tener únicamente un papel secundario en la formación del tejido de los cojinetes endocárdicos proporcionando un almacén. Para llegar al perfecto conocimiento de la interacción que se produce entre las células migratorias de los cojinetes endocárdicos y la gelatina cardíaca se requieren más investigaciones (ICARDO y MANASEK, 1992).

ICARDO y col. (1992) proponen que las células migratorias de los cojines mesenquimales no presentan una orientación preferencial en una dirección concreta. La migración de las células mesenquimales parece depender de una conducta migratoria intrínseca y de la presencia de fibronectina en su superficie celular.

MARKWALD (1979) observa que existe un retraso en la migración celular desde el endocardio hacia el interior de los cojinetes endocárdicos del canal auriculoventricular en los embriones tratados con un agente que disminuya la síntesis de glucosaminoglicanos. Así, los experimentos de MARKWALD apoyan

la existencia de una estrecha relación causal entre la composición de los glucosaminoglicanos y la migración celular.

CROSSIN y HOFFMAN (1991) han estudiado la expresión de la "cytotactin-binding proteoglycan" (CTB) y de la "neural cell adhesion molecule" (N-CAM), dos moléculas de adhesión, durante la formación y diferenciación del tejido de los cojinetes endocárdicos. Así, observan como la N-CAM, que se encuentra presente en el mesodermo cardíaco desde las primeras fases del desarrollo, cesa su expresión en el momento en el que las células endoteliales se transforman en mesenquimales e inician su migración hacia el interior de la matriz extracelular. Por otro lado, la CTB, al iniciarse la migración celular, se encuentra en la región de la gelatina cardíaca cerca del endocardio. Durante las últimas fases de la migración celular, la CTB permanece ligada a las principales zonas de migración celular, comenzando a disminuir su expresión en las zonas de acúmulo celular. Coincidiendo con el cese de la migración celular en el tejido de los cojinetes endocárdicos disminuye su expresión, permaneciendo elevada únicamente en la porción periférica del *septum aorticopulmonare* (no en los rodetes). Estos resultados sugieren el diferente papel que juegan ambas moléculas de adhesión en la morfogénesis cardíaca.

Parece ser que la fibronectina (FN) interaccionando con receptores celulares específicos de superficie va a jugar un importante papel en la migración celular. ALI y col. (1978), y ROVASIO y col. (1983) observan como la FN promueve la migración celular *in vitro*. Va a estar presente en la matriz extracelular a través de la cual diferentes tipos de células embrionarias emigran, tales como las células mesodérmicas durante la

gastrulación (CRITCHLEY y col., 1979), células de la cresta neural (NEWGREEN y col., 1980), células mesenquimales en el área vascular (MAYER y col., 1981), células corneales (KURKINEN y col., 1979), células primordiales germinales (HEASMAN y col., 1981), células precardiáticas (LINASK y LASH, 1986) y células de los cojinetes endocárdicos (KITTEN y col., 1987). Al menos en los casos de la migración celular a partir de cresta neural cefálica en el ave y durante la fase de gastrulación en el insecto y en el anfibio, el uso de anticuerpos frente a la FN *in vivo* va a bloquear la migración celular (POOLE y col., 1986; BOUCAUT y col., 1984; GRATECOS y col., 1988).

Recientemente se ha observado que las células que emigran a partir de la cresta neural expresan receptores de la familia de la integrina (DUBAND y col., 1986; KROTOSKI y col., 1986) que incluyen al menos un receptor de FN, y que los anticuerpos frente al complejo de la integrina también bloquearía la migración *in vivo* (BRONNER-FRASER, 1985 y 1986).

La FN además de promover la migración celular, va a jugar un papel en la orientación de las células en su camino migratorio. Estudios inmunocitoquímicos realizados para examinar la síntesis de FN *in vitro*, tanto por las células migratorias como por las células adyacentes a los caminos migratorios, muestran que casi todas las células troncales de la cresta neural así como las células primordiales germinales no sintetizan FN *in vitro*, mientras que sí lo hacen las células adyacentes a los caminos migratorios (NEWGREEN y col., 1980; HEASMAN y col., 1981). Basándose en estas observaciones, NEWGREEN y col. (1980) proponen que la ausencia de síntesis de FN por parte de las células migratorias aumenta su sensibilidad a la FN exógena

sintetizada por las células que integran los caminos migratorios, las cuales podrían además orientar la migración. Durante el desarrollo cardíaco, tanto las células precardiácas como las células de los cojinetes endocárdicos parecen emigrar siguiendo gradientes de FN (LINASK y LASH, 1986; KITTEN y col., 1987; MJAATVEDT y col., 1987).

El papel de la FN exógena en la orientación de las células migratorias propuesto por las anteriores observaciones acentúa la necesidad de determinar directamente *in vivo* si son las células migratorias o las adyacentes a los caminos migratorios las que sintetizan la FN presente en el camino migratorio, y si la síntesis de FN por parte de las células migratorias puede enmascarar el rastro marcado por la FN sintetizada por las células integrantes de los caminos migratorios. FFRENCH-CONSTANT y col. (1988) examinan los patrones de síntesis de FN en las células migratorias y en las integrantes de los caminos migratorios estudiando la distribución y unión alternativa del ácido ribonucleico mensajero de la FN (ARNm FN) *in vivo* por hibridación *in situ*. Observan como las células troncales migratorias de la cresta neural contienen poco o nada ARNm FN, lo que concuerda con los resultados obtenidos con técnicas inmunocitoquímicas por NEWGREEN y col. (1980). Por el contrario, en contraste con los resultados obtenidos en las células troncales de la cresta neural, observan que las células migratorias del área vascular y de los cojinetes endocárdicos contienen abundante ARNm FN. Además, este ARNm FN parece estar ligado de un modo similar a como lo hace en las células de los caminos migratorios, sugiriendo que las células migratorias proporcionan FN adicional que no puede ser diferenciada de la ya

depositada procedente de la síntesis de las células integrantes de los caminos migratorios. Esta diferente distribución del ARNm FN en tres tipo diferentes de células migratorias sugiere que la ausencia de síntesis de FN por parte de las células migratorias no es un hecho lógico de la migración celular, y que los mecanismos propuestos según los cuales la FN exógena juega un papel en la orientación de las células troncales de la cresta neural no pueden generalizarse al resto de migraciones celulares.

4.- Matriz extracelular: Gelatina cardíaca.

Las células van a producir y excretar una serie de productos que van a formar parte de su entorno inmediato. Además de agua e iones, los constituyentes estructurales del tejido conectivo generalmente se agrupan en cuatro tipos: colágeno, glucosaminoglicanos, glucoproteínas diferentes del colágeno, y elastina (MANASEK y col., 1986).

Aunque la naturaleza y propiedades del tejido conectivo dependen principalmente de las propiedades moleculares, composición, y organización de sus componentes, el tipo de tejido conectivo va a depender del tipo celular que lo produce. La gelatina cardíaca es la matriz extracelular del corazón embrionario. Es la responsable del espacio existente entre el endocardio y el miocardio en desarrollo. Han sido identificados la mayoría de los componentes principales del tejido conectivo que está presente en la gelatina cardíaca, que posiblemente son diferentes tanto cualitativa como cuantitativamente de los encontrados en el tejido conectivo adulto.

La composición de la gelatina cardíaca tradicionalmente ha sido analizada mediante estudios estructurales, autorradiográficos e histoquímicos, o a través del análisis de nuevos componentes sintetizados que han incorporado precursores radioactivos. Recientemente, se han usado anticuerpos monoclonales para detectar las moléculas de la matriz extracelular. Aunque es posible distinguir en la gelatina cardíaca la mayoría de sus componentes, se sabe relativamente poco acerca de su heterogeneidad molecular. La principal razón

es el pequeño tamaño del corazón en desarrollo, lo que dificulta la obtención del material suficiente para llevar a cabo un análisis químico y estructural detallado. Esto no nos favorece en absoluto, dado que la diversidad estructural puede estar relacionada específicamente con los procesos del desarrollo y proporcionar indicios a los cambios funcionales (ICARDO y MANASEK, 1992).

Durante el desarrollo cardíaco han sido identificados varios tipos genéticamente diferentes de colágeno. El primer tipo de colágeno detectado es el tipo I (JOHNSON y col., 1974). Posteriormente aparecen los tipo IV y III (LEIVO y col., 1980; THOMPSON y col., 1979c) y el tipo II (KOSHER y col., 1989). Todos estos tipo de colágeno aparecen dentro de la lámina basal miocárdica y endocárdica. El colágeno tipo II aparece también en el mesocardio dorsal (KOSHER y col., 1989). La distribución de estos tipos diferentes de colágeno es algo inusual. Los tipos I y III son intersticiales y aparecen como formas fibrilares en el embrión maduro o en el adulto. Sin embargo, las microfibrillas de colágeno en el corazón comienzan a aparecer en el interior de la lámina basal o asociadas con material electrón-denso de la misma (JOHNSON y col., 1974; LOW, 1968), lo que sugiere que los tipos I y III son componentes estructurales de la primitiva lámina basal. El papel del tipo II, clásicamente asociado con la condrogénesis, no se conoce hasta el momento. Conforme evoluciona el corazón en su desarrollo y el miocardio es invadido por las células mesenquimales, disminuye la síntesis del colágeno tipo IV pasando a predominar los tipos I y III (BORG y col., 1982; VON DER MARK, 1981). La presencia del colágeno tipo V también se ha detectado durante el desarrollo cardíaco (HENDRIX, 1981; VON DER

MARK, 1981).

Los cambios en la expresión de los diferentes tipos de colágeno puede tener un significado en la morfogénesis cardíaca, pero el papel exacto durante el desarrollo no se conoce hasta la fecha. La distribución anatómica de las fibras de colágeno, junto con otros componentes del tejido conectivo, experimentan cambios significativos con la edad. Las fibras se organizan formando un complejo sistema interconectado el cual se sospecha que tiene una importante función fisiológica y estructural.

En los últimos años se ha comprobado el papel esencial que juega la matriz extracelular, en concreto los tipos I y III de colágeno fibrilar, junto con los miocitos cardíacos y los vasos coronarios, en la función contráctil y en la viabilidad del miocardio. Así, las fibras de colágeno tienen las siguientes funciones: 1) Proporcionan un armazón que va a soportar las células musculares y los vasos sanguíneos (BORG y CAULFIELD, 1981). 2) Actúan como conexiones laterales entre las células y los haces musculares rigiendo la arquitectura (BORG y CAULFIELD, 1981; WEBER y col., 1987a), a la vez que coordinan la distribución de la fuerza, generada por los miocitos, en las cámaras ventriculares (ROBINSON y col., 1986). 3) Su resistencia a la tensión y su elasticidad contribuye de manera importante en la rigidez que presenta el miocárdica durante la diástole y la sístole (WEBER y col., 1987b; WEBER y col., 1988), así como en la resistencia ofrecida por el miocardio ante la deformación, manteniendo la forma, el espesor de la pared y previniendo la formación de aneurismas y ruptura ventricular (DAWSON y col., 1982; FACTOR y col., 1986).

Los glucosaminoglicanos constituyen el principal componente

de la matriz extracelular estando distribuidos por todo el tejido conectivo. Los glucosaminoglicanos son el ácido hialurónico, condroitín sulfato 4, condroitín sulfato 6, dermatán sulfato, queratán sulfato, y heparán sulfato/heparina.

En los glucosaminoglicanos contenidos en la gelatina cardíaca se han observado cambios, tanto cuantitativos como cualitativos, durante el desarrollo cardíaco.

Las **glucoproteínas** son proteínas con una o más cadenas cortas de azúcar ligadas covalentemente. Aparecen muy precozmente en el desarrollo del corazón (MANASEK, 1976; HAY y col., 1981). El número de nuevas glucoproteínas sintetizadas aumenta con el desarrollo del corazón. Ha resultado difícil establecer las características bioquímicas de las primeras glucoproteínas embrionarias del corazón. El aislamiento y caracterización individual de cada glucoproteína no ha sido realizado. Hasta la fecha, solamente la fibronectina ha sido inequívocamente identificada en el desarrollo cardíaco (Ver 3.- Migración del tejido mesenquimal).

SUMIDA y col. (1990) realizan un estudio inmunohistoquímico sobre la distribución de la vitronectina en el embrión de pollo durante la migración de las células endocárdicas al interior de los rodetes y cojinetes endocárdicos. La vitronectina es una glucoproteína que se piensa interviene en la migración celular. Basándose en los resultados obtenidos proponen que la vitronectina está involucrada en la migración de las células endocárdicas, y que el miocardio localizado frente a los cojinetes auriculoventriculares produce vitronectina.

En fases tardías del desarrollo embrionario, fibras de **elastina** han sido ultraestructuralmente identificadas en el

corazón. Poco se sabe respecto al momento en que aparecen, origen y características químicas. Hasta el momento, la síntesis y el depósito de precursores de la elastina y de la elastina misma, únicamente ha sido demostrado en los procesos de septación truncal (ROSENQUIST y col., 1988).

La gelatina cardíaca no es un gel homogéneo. Contiene una serie de inclusiones estructurales, tales como colágeno fibrilar, masas amorfas de material aniónico electrón-denso, y filamentos diferentes del colágeno. Se piensa que la distribución y orientación de estas inclusiones influye de forma notable sobre las propiedades mecánicas de la gelatina cardíaca, y probablemente sobre la forma del corazón.

En el tubo cardíaco, mediante técnicas histológicas convencionales, microscopía electrónica de transmisión (MET) y MEB, se ha demostrado la existencia de un sistema bien organizado de filamentos que se extienden desde el endocardio al miocardio (NAKAMURA y col., 1978b; HURLE y col., 1980). La distribución y orientación de las fibras de colágeno no se ha estudiado a fondo en todos los estadios. En las primeras fases de formación del tubo cardíaco, únicamente se observan pequeñas cantidades de colágeno fibrilar, no pareciendo tener ninguna distribución u orientación regional particular (MANASEK, 1970a y 1970b).

La matriz extracelular es sintetizada fundamentalmente por las células miocárdicas. El endocardio y el endodermo del intestino anterior también participan en la síntesis de los componentes de la matriz extracelular. Probablemente la participación de estas dos estructuras sea menor que la de las células miocárdicas, y parece que varía durante el desarrollo (MANASEK, 1970, 1975a y 1975b).

La capa de gelatina cardíaca va a experimentar amplias modificaciones a lo largo del desarrollo. Desaparece en algunas regiones y se acumula en otras. En la región auricular, el endocardio termina adosándose al miocardio disminuyendo enormemente el espesor de la gelatina cardíaca. Por el contrario, a nivel ventricular, el endocardio va a invadir la gelatina cardíaca penetrando en el interior del miocardio durante el proceso de trabeculización, pasando en su mayoría la capa de gelatina cardíaca a formar parte del tejido conectivo subendocárdico del corazón adulto. Sin embargo, el tejido conectivo subepicárdico, verdadero tejido conectivo del miocardio, y la adventicia vascular se forman independientemente de las células mesenquimales que invaden el corazón (MANASEK, 1970b y 1971).

SÁNCHEZ-QUINTANA y col. (1991) realizan un estudio a MO, MEB y mediante el empleo de lectinas, del espacio intersticial del miocardio ventricular en embriones de pollo desde el E 29 HH hasta la eclosión, observando la aparición progresiva y las modificaciones del espacio intersticial miocárdico durante este período de tiempo. Así, el epimisio (hoja de tejido conectivo que envuelve el miocardio parietal -epimisio subepicárdico- y la trabécula muscular -epimisio subendocárdico-) se observa ya en el E 29 HH, permaneciendo detectable en los siguientes estadios como una hoja de tejido conectivo que rodea al miocardio. Estudios realizados en corazones maduros de mamífero indican que el epimisio actúa como un elemento elástico que resiste y modula las fuerzas compresivas, protegiendo al miocardio de excesivos grados de extensión (ROBINSON y col., 1983; WEBER, 1989). Por el contrario, el perimisio (tejido conectivo intersticial que

envuelve cada uno de los haces fibrilares musculares, y une el epimisio al endomisio) presenta cambios importantes a lo largo del desarrollo. En los primeros estadios aparece como depósitos granulares de matriz extracelular sin una distribución concreta. En el E 35 HH adquiere una distribución fibrilar, presentando una especialización regional a nivel del ápex cordis y de la base ventricular, que son los puntos de anclaje de las fibras musculares durante la contracción (FACTOR y col., 1988). En los siguientes estadios, además del material fibrilar dispuesto paralelamente a las fibras miocárdicas, se observan fibras conectivas dispuestas radialmente entre las fibras miocárdicas próximas, y entre las fibras miocárdicas y los pequeños vasos intramiocárdicos. Así pues, la disposición definitiva de los componentes del perimisio parece no alcanzarse hasta momentos antes de la eclosión. Todas estas observaciones parecen indicar que la maduración del perimisio pueda estar relacionada con la adaptación y reorganización a lo largo del desarrollo de los haces fibrilares a las fuerzas generadas durante la contracción. Por otro lado, el endomisio (tejido conectivo intersticial que envuelve cada cardiomiocito) se observa por primera vez en el E 36 HH. Consta de tres componentes: 1) Delgados tractos fibrilares dispuestos transversalmente a modo de puentes entre las superficies laterales de dos cardiomiocitos próximos. 2) Formando una densa red de haces de colágeno dispuestos longitudinalmente, cubriendo la superficie de los cardiomiocitos. 3) Tractos que unen esta red al tejido conectivo del perimisio. Aunque el papel desarrollado por el endomisio en la función miocárdica no está claro (CAULFIELD y BORG, 1979; ROBINSON, 1980; BORG y CAULFIELD, 1981; ROBINSON y col., 1983; PRICE, 1984; WEBER, 1989) su

aparición en el E 36 HH indica que su formación pueda ser inducida como respuesta al aumento de presión y volumen del corazón embrionario y fetal.

TIDBALL (1992) estudia la distribución de la fibronectina y del colágeno en la capa de tejido conectivo existente entre el miocardio y epicardio ventricular (subepicardio) durante el desarrollo del corazón de ave, empleando MO, microscopía electrónica y técnicas inmunohistoquímicas. El subepicardio aumenta rápidamente de volumen entre los días 6 y 11 de incubación coincidiendo con la invasión de las células mesenquimales. Entre los días 11 al 16 el volumen del subepicardio va a disminuir como consecuencia del acúmulo de los componentes del tejido conectivo fibroso. Observan como la fibronectina es un precoz e importante constituyente del subepicardio, siendo en el día 8 la localización cardíaca más rica en fibronectina. En el día 8 se observan fibras de colágeno tipo III orientadas circunferencialmente. En estadios posteriores las fibras de colágeno tipo III se van a ir distribuyendo de un modo extenso por el subepicardio, apareciendo algunas fibras uniendo el miocardio al epicardio. Las fibras de colágeno tipo I no se observan hasta el día 10. Se van a distribuir tanto circunferencial como radialmente. Durante las últimas fases de la morfogénesis cardíaca, la fibronectina y los tipos I y III de colágeno se encuentran más concentrados en el subepicardio que en el interior del miocardio. Basándose en estas observaciones proponen que la composición y organización del tejido conectivo subepicárdico podría contribuir de un modo importante en los mecanismos morfogenéticos cardíacos que se producen a partir de la mitad del desarrollo embrionario.

La gelatina cardíaca se va a acumular en regiones específicas como las del canal auriculoventricular y el *bulbus cordis*, constituyendo los cojinetes endocárdicos y los rodetes bulbares.

Aunque los cambios anatómicos en la distribución de la gelatina cardíaca son bastante aparentes, no existen pruebas convincentes que expliquen estos cambios. Los defensores de la clásica teoría del flujo moldeante proponen un desplazamiento de la gelatina cardíaca desde las zonas sometidas a una elevada presión hemodinámica a las zonas sometidas a una baja presión. Los cojinetes endocárdicos y rodetes bulbares se desarrollarían en estas zonas de baja presión. Estas teorías son demasiado simplistas, y no tienen en cuenta la resistencia que la gelatina cardíaca puede ofrecer a estos desplazamientos (ICARDO y MANASEK, 1992).

La matriz extracelular, como propone MANASEK, tiene otras funciones durante el desarrollo cardíaco. De interés para el estudio de la influencia de la función hemodinámica en el desarrollo del corazón, es la naturaleza plástica de la matriz extracelular y su respuesta ante una fuerza deformante.

5.- Función hemodinámica.

El desarrollo cardíaco se puede considerar como un proceso dinámico de crecimiento y morfogénesis acompañado de cambios en la función hemodinámica.

El corazón es el primer órgano en empezar a funcionar en el embrión. Los miofilamentos comienzan a formarse dentro de los mioblastos en el E 9 HH (29-33 horas) y el tubo cardíaco comienza a latir en el E 10 HH (33-38 horas). El flujo sanguíneo de la circulación embrionaria y extraembrionaria comienza en el E 12 HH (45-49 horas) (MANASEK, 1970b); a partir de este estadio el corazón va a proporcionar el aporte circulatorio al embrión durante el resto del desarrollo.

Durante mucho tiempo los embriólogos han especulado sobre el posible papel de la función hemodinámica en el desarrollo estructural del sistema cardiovascular.

SPITZER (1951) fue tal vez el más entusiasta en sus hipótesis, especulando que el flujo sanguíneo a través del corazón erosiona y moldea las cámaras cardíacas (LEV y VASS, 1951). Sin embargo, el establecer la interrelación entre la forma y la función del corazón durante el desarrollo no resulta tan fácil.

Los cambios morfológicos que se producen durante el desarrollo del corazón han sido ampliamente estudiados.

Se dispone de menos información sobre los cambios hemodinámicos producidos. El análisis de estudios experimentales que modifican los patrones de flujo (Intervenciones sobre el polo arterial: MANHOFF y JOHNSON, 1951; RYCHTER y LEMEZ, 1957, 1958, 1959 y 1960; RYCHTER, 1962; PEXIEDER, 1969b y 1976;

GESSNER, 1966 y 1978; GESSNER y VAN MIEROP, 1970; CLARK y ROSENQUIST, 1978; ARTEAGA y col., 1982; CLARK y col., 1984; ARANEGA y col., 1985. Intervenciones sobre el polo venoso: STEPHAN, 1955; ORTS- LLORCA y col., 1959 y 1980; MURILLO-FERROL, 1965; JAFFEE, 1965; CLARK, 1969; ROHR y VAUPEL, 1975; BENITEZ-RUBIO, 1986; ICARDO, 1989b; TABORDA-LOPEZ, 1990. Intervenciones directas sobre el corazón: RYCHTER y LEMEZ, 1958 y 1960; RYCHTER, 1962; HARH y col., 1973; DOR y col., 1978; DOR y CORONE, 1979; DOMENECH y REIG, 1980. Empleo de factores teratógenos físicos y químicos: GRABOWSKI y PAAR, 1958; DE LA CRUZ y col., 1966; JAFFEE, 1971 y 1976; GILANI y JAFFEE, 1971; GILANI y SILVESTRI, 1977; GILBERT y col., 1980; WISPE y col., 1983; KUHLMANN y col., 1983; CLARK, 1984; RAJALA y col., 1984a y 1984b; BRUYERE y col., 1984; CAMERON y col., 1984; RAJALA y col., 1988) proporciona únicamente indicios deductivos que conducen a algunos investigadores a formular la hipótesis de que la alteración funcional constituye un mecanismo patogénico de anomalías morfológicas.

La dificultad en establecer la interrelación entre la forma y la función del corazón durante el desarrollo se ha basado esencialmente en la ausencia de técnicas para cuantificar los factores hemodinámicos de la circulación precoz.

El establecimiento de los modelos de flujo sanguíneo existentes en el corazón embrionario ha proporcionado una base para analizar el papel que juegan los factores hemodinámicos durante la cardiogénesis.

BREMER (1929, 1931/1932) a las 48 horas de incubación establece la existencia de dos corrientes desarrollando espirales, desde las venas vitelinas derecha e izquierda, de

forma que entre estas dos corrientes se desarrollan los cojinetes endocárdicos y los tabiques interventricular y bulbar. No atribuía la septación interauricular a las corrientes sanguíneas citadas.

Por el contrario, JAFFEE (1963) describe en corazones de rana la formación del *septum interauriculare* moldeada por la influencia de las corrientes sanguíneas.

JAFFEE (1965) en el día tres de incubación (momento en el que las venas vitelinas se fusionan en el hígado; el vaso resultante unido al conducto de Cuvier derecho forman una gran corriente sanguínea derecha, mientras que la izquierda sólo está compuesta por el conducto de Cuvier izquierdo -ROMANOFF, 1960-) describe dos corrientes. Una corriente derecha que fluye en sentido craneal, paralela al eje longitudinal del embrión, desde el seno venoso para situarse ventralmente en la aurícula, atraviesa el canal auriculoventricular, pasando por la porción craneal del ventrículo hacia el lado derecho del bulbus. La corriente izquierda describe una espiral sobre la derecha, entrando en el seno venoso casi en ángulo recto con respecto a la corriente derecha, donde se localiza primero dorsal, después ventral y a la izquierda, continua a la izquierda dentro de la aurícula izquierda describiendo un amplio arco hacia la izquierda, dirigiéndose caudalmente hacia el canal auriculoventricular; continua en la porción izquierda del ventrículo dirigiéndose hacia arriba, más hacia la derecha conforme se va haciendo craneal.

Así, para JAFFEE (1963 y 1965) el *septum interauriculare* se desarrolla entre dos corrientes paralelas al igual que el *septum interventriculare*.

JAFFEE (1967) en el día tres de incubación describe dos corrientes, derecha e izquierda, en el tracto de salida arterial. Observa que la septación en el tracto de salida se produce entre dos corrientes de igual calibre. El hallazgo de una corriente izquierda de menor calibre seguida de estenosis aórtica (JAFFEE, 1964 y 1966a) es un indicio de que la posición del *septum aorticopulmonare* está determinada por el calibre de las dos corrientes.

JAFFEE (1978) sostiene que la septación, tamaño de las cámaras cardíacas y posición de las grandes arterias, son fenómenos morfológicos relacionados con el flujo sanguíneo. Las anomalías del flujo sanguíneo van a determinar la aparición de malformaciones cardíacas.

YOSHIDA y col. (1983) , mediante estudios microangiográficos con azul de metileno, describen dos corrientes intracardíacas en embriones comprendidos entre los estadios 14 y 22 HH.

ARCILLA (1986) estudiando los modelos de flujo durante el desarrollo del corazón, antes de la septación y formación valvular, observa dos modelos de corrientes (iguales a los descritos por YOSHIDA y col., 1983) a los que denomina tipo A y tipo B. La corriente tipo A discurre a lo largo de la pared dorsal del tronco onfalomesentérico común y del seno venoso, porción craneal de la aurícula primitiva y del canal auriculoventricular, porción ventral del ventrículo primitivo y *conus cordis*, girando en sentido horario unos 90° hacia los arcos aórticos, alcanzando principalmente los del lado izquierdo. La corriente tipo B discurre a lo largo de la pared ventral del tronco onfalomesentérico común y del seno venoso, porción caudal de la aurícula primitiva y del canal

auriculoventricular, porción dorsal del ventrículo primitivo y *conus cordis*, girando unos 90° para alcanzar, principalmente, los arcos aórticos derechos. De este modo, ambas corrientes mantienen una relación craneocaudal en el interior de la aurícula primitiva y anteroposterior en el interior del ventrículo primitivo y *conus cordis*. La relación craneocaudal observada entre ambas corrientes en el interior de la aurícula primitiva y canal auriculoventricular común no justifica la relación definitiva izquierdoderecha y anteroposterior de ambas aurículas en el corazón maduro. Del mismo modo, la relación anteroposterior observada entre ambas corrientes en las asas bulboventriculares proximal y distal, incluyendo el *conus cordis*, no justifica la orientación específica del *septum interventriculare* y las posiciones relativas de los ventrículos derecho e izquierdo en el corazón maduro.

Los dos modelos de corrientes descritos por **ARCILLA** difieren de los descritos por **BREMER y JAFFEE**, quienes describieron una corriente derecha y otra izquierda que adoptan un curso espiral en la región troncoconal. El hecho de que a nivel troncoconal las corrientes no sigan una trayectoria espiral, al menos durante los primeros estadios del desarrollo cardíaco, no justifica el posible papel de estas corrientes en la septación troncoconal. Por lo tanto, **YOSHIDA y col.** al igual que **ARCILLA** no comparten la teoría flujo moldeante defendida por **BREMER y JAFFEE** entre otros. Sostienen que la septación, al igual que otros acontecimientos básicos del desarrollo, es un proceso intrínseco y programado en los primeros estadios del desarrollo.

Se han realizado varios trabajos en un intento de profundizar en el conocimiento de los cambios hemodinámicos

producidos durante la morfogénesis cardíaca.

Así, VAN MIEROP y BERTUCH (1971) y GIRARD (1973) midieron la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea en el embrión de pollo desde el E 18 HH hasta el nacimiento, observando que la presión media sanguínea aumenta rápidamente y de forma exponencial desde el día tres hasta el día diez de incubación para en estadios posteriores experimentar un aumento más lento.

FABER y col. (1974) llevan a cabo un cálculo cinematográfico del volumen de salida y de la frecuencia cardíaca en el embrión de pollo de 3 días 2 horas a 4 días 21 horas de incubación. Proponen que durante el crecimiento del embrión el aumento del volumen sanguíneo embrionario va a dar lugar a un aumento del volumen de salida que a su vez da lugar a un aumento del flujo cardíaco.

CLARK y col. (1982), y HU y col. (1989) estudian una serie de parámetros hemodinámicos en embriones de pollo de tres a cinco días, y de 50 horas a 6 días de incubación respectivamente (miden la velocidad de la sangre en la aorta dorsal, presión en la arteria vitelina media, frecuencia cardíaca, diámetro de la aorta dorsal y peso del embrión por estadio; a partir de estos datos calculan el flujo medio sanguíneo en la aorta dorsal, el flujo medio sanguíneo en la aorta dorsal por ciclo cardíaco, el flujo medio sanguíneo en la aorta dorsal por mg de peso del embrión, resistencia vascular y trabajo cardíaco). Observan que el flujo sanguíneo aumenta geométricamente con cada estadio embrionario permaneciendo constante una vez normalizado el peso del embrión. La presión media arterial aumenta linealmente y la resistencia vascular disminuye geométricamente. El trabajo cardíaco aumenta proporcionalmente con el peso del embrión. Es

decir, se produce un aumento notable de la función hemodinámica durante el desarrollo. Proponen que los cambios morfológicos producidos durante el desarrollo cardíaco se producen de forma paralela al aumento de la función hemodinámica.

CLARK y col. (1986) estudian los cambios morfológicos y funcionales producidos en el embrión de pollo entre los estadios 18 al 29 de HH, concluyendo que la organización final del miocardio está en parte determinada por la acción recíproca de las fuerzas hemodinámicas sobre el desarrollo de las paredes ventriculares. Corroboran lo dicho por ZAK y col (1979): "los cambios en la tensión mural es probablemente un factor extrínseco en la regulación de la formación del miocardio".

CLARK y col. (1989) llevan a cabo un estudio en embriones del E 21 de HH sobre el efecto que provoca el aumento de la carga funcional en el crecimiento ventricular. Observan como se produce un aumento de la masa miocárdica a expensas de una hiperplasia miocítica. De este modo comprueban como el ajuste de la masa miocárdica frente al trabajo ventricular se produce desde las primeras fases del desarrollo embrionario. Concluyen que el crecimiento cardíaco se ajusta a los factores ambientales sin alterar el patrón de morfogénesis, poniendo en tela de juicio la consideración de que el crecimiento y la morfogénesis del corazón discurren indisociablemente durante el desarrollo. Proponen que el crecimiento y la morfogénesis del corazón son procesos paralelos, pero separables.

HU y col. (1991) llevan a cabo un estudio de las características del llenado diastólico ventricular en embriones de los estadios 12 al 27 de HH. Observan como disminuye la proporción relativa del componente pasivo con relación a la del

componente activo desde los estadios 12 al 27 de HH.

KELLER y col. (1991) proponen que las relaciones entre la presión y el área definen con bastante precisión la función ventricular durante los estadios 16 al 24 HH.

CAMPBELL y col. (1992) llevan a cabo un estudio de las dimensiones auriculares dinámicas y de su función en embriones de los estadios 16 al 24 HH. Observan como el área máximo y mínimo de la aurícula aumenta linealmente con el estadio. Durante la contracción auricular, la velocidad de acortamiento de la pared circunferencial aumenta linealmente con el estadio; sin embargo, la velocidad de expansión es similar entre los estadios. Un flujo auriculoventricular pasivo se produce tardíamente durante la expansión auricular, mientras que durante la contracción auricular se produce un flujo auriculoventricular activo.

Así, la función auricular aumenta paralelamente a la morfogénesis durante las primeras fases del desarrollo.

III. CARDIOPATIAS HIPERTROFICA Y DILATADA EN EL RECIEN NACIDO.

Como ya hemos comentado al principio de esta introducción las anomalías cardíacas constituyen el grupo de malformaciones congénitas más frecuente en la especie humana. Ocurren aproximadamente en el 1% de todos los recién nacidos vivos (WILSON y col., 1991).

Una de las principales características del corazón es su posibilidad de adaptarse a los cambios hemodinámicos tanto agudos como crónicos.

Ante los cambios hemodinámicos agudos el corazón responde a través de dos mecanismos: 1) Variando el número de enlaces cruzados entre los miofilamentos de actina y miosina, lo que va a depender de la longitud de los sarcómeros miocárdicos. 2) A través de la noradrenalina que interacciona con los receptores beta-adrenérgicos modificando la contractilidad.

Ante una sobrecarga hemodinámica crónica motivada por una cardiopatía congénita (puede estar motivada por otras causas como la hipertensión y las valvulopatías) el tipo de respuesta va a depender de la edad del animal. En el adulto, el corazón va a compensar la sobrecarga funcional crónica a través de una hipertrofia del miocardio (BUGAISKY y col., 1986; HAMRELL y col., 1986). En el joven, el corazón va a responder tanto con una hiperplasia como con una hipertrofia del miocardio (RAKUSAN, 1966; RAKUSAN, 1984). Sin embargo, poco se sabe sobre la respuesta del corazón embrionario.

En el corazón fetal de cordero, la principal respuesta es

la hiperplasia (FISHMAN y col., 1978).

CLARK y col. (1989) llevan a cabo un estudio en embriones de pollo del E 21 de HH sobre el efecto que provoca el aumento de la carga funcional provocado mediante la ligadura del troncocono en el crecimiento ventricular. Observan como se produce un aumento de la masa miocárdica a expensas de una hiperplasia miocítica.

Para NODEN y LAHUNTA (1990), como consecuencia de la cardiopatía congénita, lesión primaria, se van a producir una serie de lesiones o respuestas secundarias. Los dos cambios más relevantes que pueden producirse de modo secundario a la anomalía cardíaca son: la dilatación de sus cavidades y la hipertrofia de sus paredes. La dilatación se produce si el volumen de sangre de una cavidad se mantiene elevado por una disminución en la salida o por un aumento en la entrada. La hipertrofia del miocardio se va a producir cuando la fuerza muscular necesaria para llevar a cabo la contracción y vaciado de una cavidad se mantiene más alta de lo normal de una forma crónica.

Ante una sobrecarga hemodinámica crónica la respuesta adaptativa predominante del corazón adulto es la hipertrofia miocárdica (ANVERSA y col., 1983; RAKUSAN, 1984). En la hipertrofia ventricular se observa como se van añadiendo nuevos sarcómeros en el interior de cada miocito, aumenta la síntesis proteica y en ocasiones disminuye la degradación de las proteínas. En la hipertrofia aumenta la fracción de proteínas cardíacas totales formada por las proteínas miofibrilares.

Los mecanismos responsables de la hipertrofia miocárdica han sido objeto de numerosos estudios. El aumento sostenido de la presión intraventricular se acompaña de un incremento en la

expresión del ARNm que codifica diversas proteínas contráctiles. Este aumento del ARNm es el responsable del aumento de la síntesis proteica en el miocardio.

Además del crecimiento miocítico, consecuencia de la sobrecarga funcional mantenida, se observa un aumento del espacio intersticial derivado de la hiperplasia de los fibroblastos y del excesivo depósito de formas alteradas de colágeno. La desaparición de la sobrecarga hemodinámica, quirúrgica o farmacológica, suele conducir a la regresión parcial de la hipertrofia miocítica, pero no necesariamente al de la proliferación intersticial (BRAUNWALD, 1991).

WEBER (1989) observa como en los procesos hipertróficos secundarios a una sobrecarga de presión mantenida, aumenta la síntesis del colágeno, proliferan los fibroblastos y se producen cambios estructurales y bioquímicos en la matriz extracelular. Estos incluyen diferentes patrones de fibrosis miocárdica reactiva y reparativa, alguno de los cuales altera la rigidez miocárdica existente durante los procesos de sístole y diástole pudiendo conducir a una hipertrofia patológica. En cambio, la pérdida de las conexiones que establece el colágeno entre las células y haces musculares o la disminución de la resistencia a la tensión que presenta la matriz extracelular pueden ser los responsables de las transformaciones globales o regionales de la arquitectura miocárdica que se observan en las cardiopatías dilatadas.

Posteriormente, WEBER y col. (1990) proponen que el adelgazamiento o engrosamiento del miocardio producido respectivamente cuando crece excéntrica o concéntricamente, probablemente requiere el deslizamiento de las fibras musculares

además de la interrupción de las conexiones que establece el colágeno tipo I y III entre los haces musculares (Fig. 5). Observan como se produce la interrupción de las conexiones establecidas por las fibras de colágeno y la reorganización arquitectural en el miocardio de rata y de primate durante las primeras fases del crecimiento hipertrófico asociado a una sobrecarga funcional o a una cardiopatía catecolamínica, así como en el hombre con una cardiopatía dilatada de etiología desconocida. Sugieren que el requisito anatómico necesario para que se produzca el deslizamiento de las fibras musculares es la interrupción de las fibras de colágeno. Posiblemente, dicha interrupción no es debida a fuerzas mecánicas, sino más bien a la acción de la colagenasa.

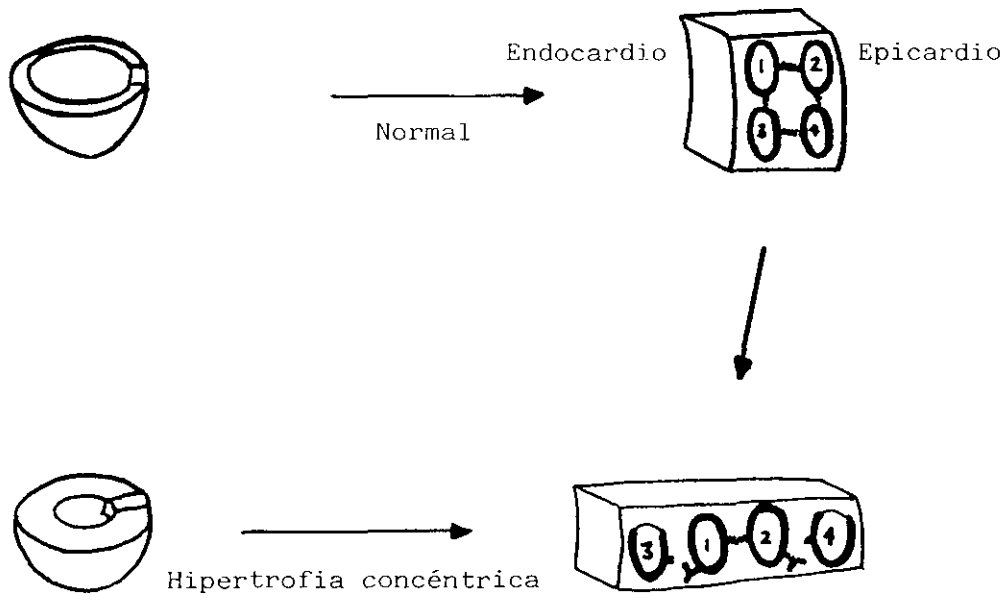
ANVERSA y col. (1986) comparan cuantitativamente las propiedades estructurales que presenta el miocardio ventricular del corazón de rata durante el crecimiento fisiológico postnatal, con las del miocardio hipertrófico del corazón de rata adulta secundario a un aumento de presión o de volumen mantenido, o a procesos isquémicos, con el fin de determinar si la hipertrofia cardíaca inducida es un proceso patológico o simplemente una forma bien compensada de crecimiento rápido.

La expansión del miocardio ventricular durante el proceso de maduración se puede considerar como una respuesta compensadora bien equilibrada, dado que tanto los capilares de la microcirculación, como las células parenquimales, como los componentes subcelulares de los miocitos, todos crecen de un modo proporcional al aumento de la masa cardíaca.

Por el contrario, el incremento en el diámetro y longitud de los miocitos provocado por un aumento mantenido de la presión,

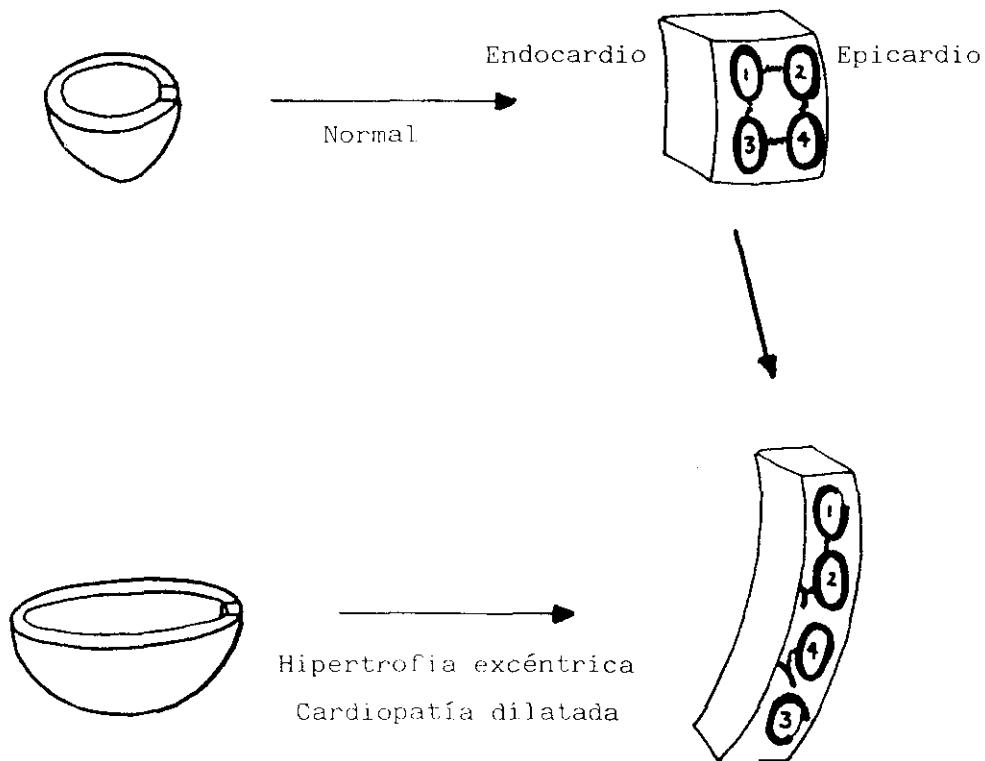
Figura 5. – A, Representación esquemática del deslizamiento de la fibra muscular ante una sobrecarga de presión, hipertrofia concéntrica. Un deslizamiento positivo de la fibra muscular hacia el eje central de la cavidad requiere la ruptura de los puentes de colágeno. B, Representación esquemática del deslizamiento negativo de la fibra muscular en la cardiopatía dilatada. Como en la hipertrofia concéntrica, el remodelamiento arquitectural de la hipertrofia excéntrica requiere la ruptura de los puentes de colágeno. En la hipertrofia excéntrica y en la cardiopatía dilatada el deslizamiento negativo permite a la pared miocárdica el adelgazarse. (Tomado de WEBER, 1989).

DESLIZAMIENTO POSITIVO DE LA FIBRA MUSCULAR



A

DESLIZAMIENTO NEGATIVO DE LA FIBRA MUSCULAR



B

por un aumento mantenido del volumen y por procesos isquémicos, se corresponde respectivamente con un crecimiento ventricular concéntrico, excéntrico y con una combinación de ambos crecimientos. Estos cambios en la forma de los miocitos podría constituir una respuesta compensadora del miocardio a nivel de la organización celular con el fin de minimizar los efectos del aumento de presión o de volumen, o de ambos. Sin embargo, en la hipertrofia cardíaca inducida se observan también alteraciones que afectan a la luz de los capilares, volumen y superficie de las mitocondrias, volumen de la miofibrillas, lo que refleja una adaptación inadecuada de los componentes estructurales responsable de la oxigenación tisular y de la producción energética.

Así, la hipertrofia del corazón adulto difiere de la producida durante el crecimiento fisiológico, pudiendo presentar el miocardio hipertrófico anomalías estructurales de las que cabe esperar aumentan la sensibilidad a la isquemia.

ELIMBAN y col. (1987) provocan la hipertrofia del ventrículo izquierdo en corazones de cerdo de 4, 8 y 12 semanas realizando una ligadura supravalvular de la aorta, valorando la actividad de la ATP miosínica y miofibrilar. Proponen que la hipertrofia miocárdica se acompaña de cambios específicos en la actividad enzimática de las proteínas contráctiles y de respuestas bifásicas que podrían correlacionarse con el estado funcional del miocardio sometido a un aumento de presión crónico.

HONDA y col. (1989) llevan a cabo un estudio en el perro con el fin de determinar si existe algún factor humoral relacionado con la hipertrofia cardíaca que se produce en la hipertensión perinefrítica. Sus resultados demuestran la existencia de al

menos un factor que puede inducir y/o modular la hipertrofia miocárdica en este tipo de hipertensión.

WEBER y BRILLA (1991) sugieren que en la hipertrofia miocítica y en la hipertrofia ventricular izquierda, son independientes el crecimiento de los miocitos por un lado y el crecimiento de los fibroblastos y aumento de la síntesis de colágeno por otro. Esto ha sido demostrado en estudios experimentales sobre la hipertensión realizados *in vivo* en los que la respuesta anómala del tejido fibroso se encontró en el hipertenso, ventrículo izquierdo hipertrofiado, así como en el normotenso, ventrículo derecho no hipertrofiado. Estos hallazgos hacen sospechar el posible papel de una sustancia circulante que alcanza la circulación coronaria común. Esta hipótesis ha sido examinada en varios modelos de animales a los que se les varió las concentraciones plasmáticas de angiotensina II y aldosterona. En base a los resultados morfológicos y morfométricos, concluyen que la hipertensión arterial junto con la aldosterona circulante elevada están relacionados con los fibroblastos cardíacos en la heterogeneidad estructural del tejido.

Durante la diástole fisiológica el aumento de los diámetros lineales del corazón se corresponde con un estiramiento de los sarcómeros. En la dilatación aguda se produce un estiramiento adicional de los sarcómeros, siendo las fibras de colágeno epicárdicas y pericárdicas las que determinan la extensión máxima. Sin embargo, los mecanismos encontrados en la dilatación crónica son diferentes. En este caso los sarcómeros no aumentan en longitud. El crecimiento longitudinal de las fibras musculares y los cambios en la disposición de las fibras musculares podrían explicar los cambios estructurales que se producen durante el

desarrollo de la dilatación crónica. Existen varias causas de dilatación crónica. Las principales son la hipertensión descompensada, el infarto miocárdico crónico y la cardiomiopatía dilatada. Según cual sea la causa de la dilatación crónica van a variar los hallazgos macroscópicos, microscópicos y ultraestructurales encontrados. Casi todos los corazones con dilatación crónica están hipertrofiados. Hasta el momento, no se conocen los mecanismos morfológicos responsables de la dilatación crónica (HORT, 1990).

JACOB y col. (1990) realizan una serie de estudios dinámicos y geométricos en el miocardio ventricular. Llegan a la conclusión de que en la cardiopatía dilatada el fallo del ventrículo izquierdo es debido inicialmente a una disminución de la distensibilidad y contractibilidad miocárdica y no a condiciones geométricas.

No deben de confundirse las cardiopatías hipertrófica y dilata secundarias a una sobrecarga hemodinámica crónica, con las miocardiopatías hipertrófica y dilatada.

Las miocardiopatías son enfermedades que afectan de manera primaria al miocardio.

En los países desarrollados, la incidencia anual de miocardiopatías oscila de 0'7 a 7'5 casos por cada 100.000 personas (ABELMANN, 1985).

Etiológicamente se clasifican en:

- **Forma primaria**, enfermedad del músculo cardíaco de causa desconocida.
- **Forma secundaria**, enfermedad miocárdica de causa conocida.

Clínicamente se clasifican en:

- **Dilatada:** agrandamiento del ventrículo izquierdo o del ventrículo derecho, o de ambos, alteración de la función sistólica, insuficiencia cardíaca congestiva, arritmias, embolias.

- **Restictiva:** fibrosis endomiocárdica o infiltración miocárdica que produce restricción del llenado ventricular izquierdo, del derecho, o de ambos.

- **Hipertrófica:** hipertrofia ventricular izquierda desproporcionada que típicamente afecta más al tabique que a la pared libre, con o sin gradiente de presión sistólica intraventricular; habitualmente la cavidad del ventrículo izquierdo no está dilatada.

En la **miocardiopatía dilatada** se ve alterada la función de bomba de ambos ventrículos, lo que da lugar al agrandamiento del corazón y a menudo síntomas de insuficiencia cardíaca congestiva. Con frecuencia existen trombos murales, especialmente en la punta del ventrículo izquierdo. El estudio histológico muestra áreas extensas de fibrosis intersticial y perivascular con mínima necrosis e infiltración celular. Aunque en muchos casos no existe una causa evidente, la miocardiopatía dilatada probablemente es el resultado final de la lesión miocárdica producida por diversos agentes tóxicos, metabólicos o infecciosos.

SCHAPER y col. (1991) llevan a cabo un estudio a microscopía electrónica e inmunocitoquímico del tejido miocárdico de ocho pacientes con una cardiopatía dilatada en fase terminal sometidos a un trasplante cardíaco. Basándose en sus observaciones concluyen que el aumento de la fibrosis, la degeneración de las

células miocárdicas hiperetrofiadas y las alteraciones citoesqueléticas son los eventos morfológicos relacionados con la disminución de la función miocárdica en el fallo cardíaco crónico.

El rasgo diferencial de las **miocardiopatías restrictivas** es la función diastólica anormal; las paredes ventriculares son demasiado rígidas e impiden el llenado ventricular. Por lo general, hay fibrosis, hipertrofia o infiltración secundarias a diversas causas.

La característica morfológica principal de la **miocardiopatía hipertrófica** es la presencia de un ventrículo izquierdo hipertrofiado y no dilatado en ausencia de una patología primaria que pudiera provocar la hipertrofia (GOODWIN, 1982; MARON y col., 1987) .Por lo tanto, esta hipertrofia no es secundaria a una enfermedad cardiovascular o sistémica que produzca una sobrecarga hemodinámica en el ventrículo izquierdo. Dos rasgos habituales de esta enfermedad llaman especialmente la atención: 1) hipertrofia heterogénea del ventrículo izquierdo, a menudo con hipertrofia septal asimétrica en la que se hipertrofia preferentemente la porción superior del tabique interventricular; 2) un gradiente dinámico de presión de la vía de salida del ventrículo izquierdo relacionado con la estenosis de la región subaórtica, a consecuencia del desplazamiento sistólico de la valva mitral anterior contra el tabique hipertrófico. Los primeros estudios realizados sobre esta enfermedad reseñaban los rasgos obstructivos por lo que se la denominó "estenosis subaórtica hipertrófica obstructiva", "miocardiopatía hipertrófica obstructiva" y "estenosis subaórtica muscular". Sin embargo, se ha demostrado que sólo la cuarta parte de los

pacientes con miocardiopatía hipertrófica presentan un gradiente en la vía de salida. La alteración fisiopatológica no es sistólica sino diastólica, y se caracteriza por un aumento de la rigidez del músculo hipertrófico, lo que va a aumentar la presión diastólica de llenado, que está presente a pesar de la hiperdinamia del ventrículo izquierdo.

En la miocardiopatía hipertrófica, el patrón de hipertrofia del ventrículo izquierdo es característico y difiere del de la hipertrofia secundaria. La mayoría de los pacientes muestran diferencias regionales en el grado de hipertrofia del ventrículo izquierdo. En la mayor parte el tabique tiene un grosor desproporcionado en comparación con la pared libre. En algunos casos se observa una afectación desproporcionada de la punta o de la pared libre del ventrículo izquierdo. El 10% o más muestran una afectación concéntrica del ventrículo (La "hipertrofia concéntrica" se caracteriza por un aumento en el espesor de la pared sin que se produzca aumento de la cavidad ventricular; se produce como consecuencia de un aumento de presión mantenido. La "hipertrofia excéntrica" consiste en un aumento del volumen de la cámara ventricular sin que se produzca aumento relativo del espesor de la pared; se va a producir como consecuencia de un aumento de volumen mantenido -GROSSMAN y col., 1975-). No obstante, todos ellos muestran una notable desorganización de las células musculares cardíacas a nivel del tabique independientemente de que exista o no gradiente, junto a un grado variable de fibrosis y alteraciones de las pequeñas arterias coronarias nutricionales.

Parece ser que aproximadamente la mitad de los casos de miocardiopatía hipertrófica se transmiten con carácter autosómico

dominante, con grados variables de expresión y penetración; existe una considerable variabilidad en la extensión de la hipertrofia y de los síntomas, incluso entre familiares próximos. El resto de los casos parecen ser esporádicos, pero algunos pueden ser nuevas mutaciones (WYNNE y col., 1991).

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado 1250 embriones de ave de la especie *Gallus gallus domesticus*, pertenecientes a la raza Shaver blanca. Hemos elegido esta raza debido a la experiencia obtenida en el Laboratorio de Embriología donde se ha realizado este trabajo, ya que se viene utilizando desde 1979 en diversos estudios, sin encontrarse malformaciones cardíacas o extracardíacas espontáneas en porcentajes valorables.

Los embriones utilizados podemos agruparlos en 7 grupos:

1) **CONTROLES DE MO:** 6 embriones fueron procesados para su estudio a MO siendo utilizados como embriones control.

2) **CONTROLES DE MEB:** 163 embriones fueron procesados para su estudio a MEB siendo utilizados los supervivientes como embriones control (TABLAS 1 y 2).

3) **TESTIGOS DE TIRODE:** a 83 embriones se les inyectó una cantidad determinada de tirode siendo procesados los supervivientes para su estudio a MO y MEB, y utilizados como embriones testigo (TABLAS 3, 4 y 5).

4) **TESTIGOS DE HEPARINA:** a 113 se les inyectó una cantidad determinada de tirode + heparina siendo procesados los supervivientes para su estudio a MO y MEB, y utilizados como embriones testigo (TABLAS 6, 7 y 8).

5) **EMBRIONES DONANTES:** 480 fueron utilizados como donantes de sangre.

6) **EMBRIONES OPERADOS:** a 307 se les inyectó determinadas cantidades de sangre obtenidas a partir de los embriones donantes siendo procesados los supervivientes para su estudio a MO y MEB (TABLAS 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17).

7) 98 fueron utilizados como **TESTIGOS "EN BLANCO"**. Por cada 10 embriones incubados destinados a ser "testigos de tirode",

"testigos de heparina" o "embriones operados", incubamos 2 embriones "testigos en blanco".

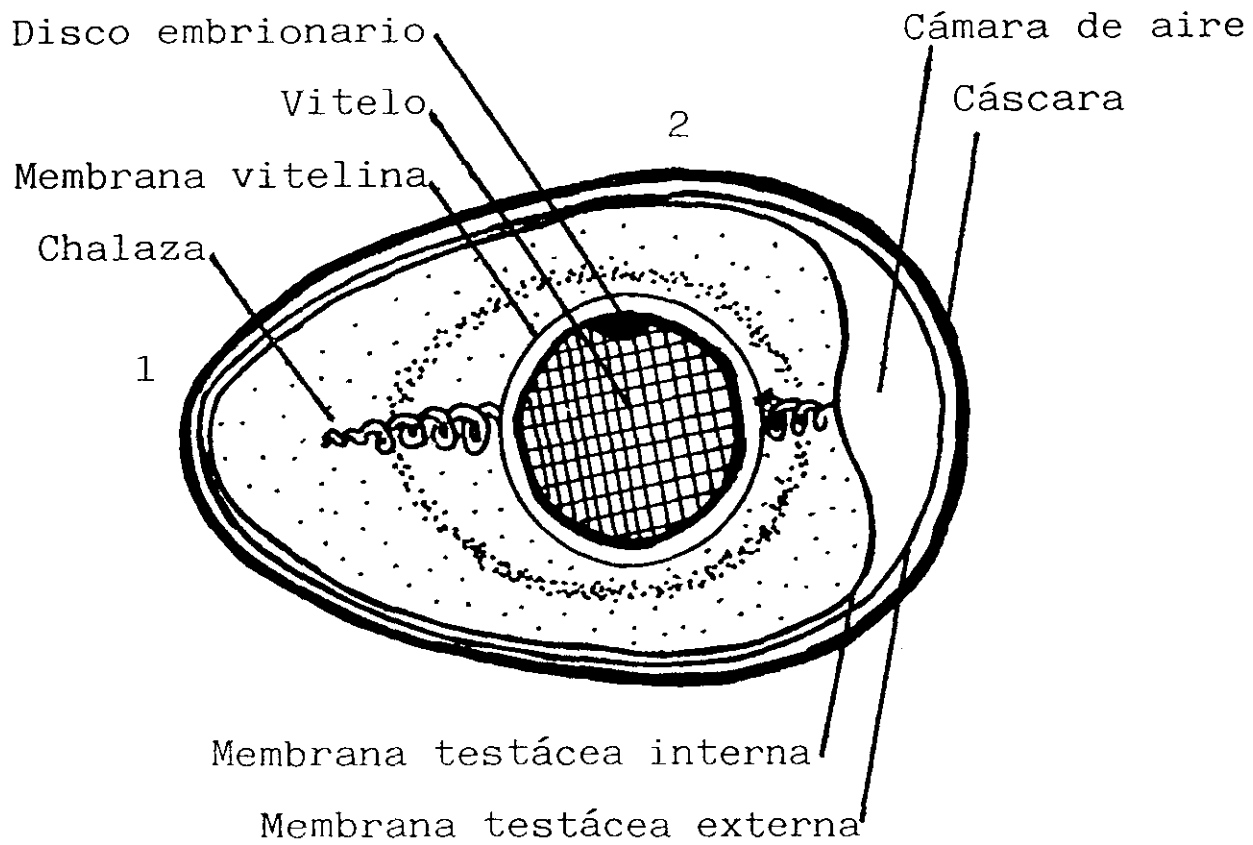
Los huevos fueron limpiados con alcohol-éter al 50% e incubados en posición horizontal en una estufa (MEMMERT-UV) a 37-38° C de temperatura y 80% de humedad.

Entre las 36-48 h. de incubación se procedió a la extracción de 1'5 cc. de albúmina mediante una jeringuilla de 2 cc. de capacidad, a través de un orificio practicado con una lanceta en el polo agudo del huevo, contrario a la cámara de aire (Fig. 6: 1). Este orificio se cierra con papel de Parafilm que se sella con parafina líquida. Posteriormente, con una lanceta, se abre una ventana de 1-2 cm² de superficie en la parte superior del huevo (Fig. 6: 2). A través de dicha ventana, mediante una aguja histológica calentada a la llama, se rompen las burbujas de aire formadas como consecuencia de la extracción de la albúmina para evitar un posible impedimento mecánico en el desarrollo del embrión. La ventana se cierra de manera análoga a como se cerró el orificio practicado en el polo agudo.

La finalidad de la extracción de la albúmina es evitar que al abrir la ventana en la parte superior del huevo (Fig. 6: 2) para manipular al embrión se lesione al mismo o a los vasos extraembrionarios, ya que en el huevo, en condiciones normales, estas estructuras están inmediatamente debajo de la membrana testácea que recubre internamente a la cáscara.

La razón de extraer la albúmina entre las 36-48 h. de incubación es la siguiente: Durante las 12-15 primeras horas de incubación el blastodermo está inmerso en la albúmina, recubierto por una delgada capa de la misma; a partir de las 15 h. se eleva

Figura 6. — Componentes de un huevo de ave. 1, zona por donde se extrae la albúmina. 2, zona por donde se accede al embrión.



poco a poco tratando de emerger, pero en un huevo normal nunca se alcanza la emersión completa. En cambio, en un huevo que se ha abierto, el blastodermo emerge con el riesgo inminente de desecación, deshidratación. Esta dificultad disminuye hacia la mitad del segundo día - 36 h. - y desaparece completamente después de las 48 h. en que ya se inicia la circulación y la formación del amnios que va protegiendo al embrión; hasta entonces, la hidratación y nutrición dependen de la albúmina. Por ello, lo ideal es extraer la albúmina a partir de las 36 h., tampoco después de las 48 h. ya que al expanderse el alantoides y con él los vasos extraembrionarios se adhieren estos rápidamente a la membrana testácea y se romperían al abrir la ventana de acceso al embrión.

Dicha extracción se realizó en todos los embriones utilizados excepto en los "embriones donantes".

Aunque no es necesario extraer la albúmina en los embriones empleados como "controles de MO", ni en los "controles de MEB", ni en los "testigos en blanco", lo hemos hecho dado que dicha extracción sí que es necesario realizarla en todos los embriones utilizados como "testigos de tirode", "testigos de heparina" y como "embriones operados".

Una vez realizada la extracción de albúmina los huevos fueron reincubados hasta alcanzar el estadio deseado, momento en el que los embriones fueron extraídos del huevo, lavados en tampón fosfato de Sorensen (0,1 M y pH = 7,2-7,4) y estadiados según la clasificación de **HAMBURGER-HAMILTON (1951)**.

Los embriones que presentaron malformaciones macroscópicas fueron fotografiados con un equipo de Macrofotografía WILD 400.

1. - CONTROLES DE MO.

Hemos obtenido una serie de embriones (tanto embriones control como testigos de tirode, testigos de heparina y embriones operados) procesados para su estudio a MO, que no vamos a analizar en el presente trabajo, por lo que no hablaremos de las técnicas empleadas en su procesamiento, ni de los resultados obtenidos. Únicamente los consideraremos a la hora de hablar de cifras globales de mortalidad, así como de las malformaciones externas presentadas por algunos de estos embriones.

2. - CONTROLES DE MEB.

A este colectivo de embriones podemos dividirlo en dos grupos atendiendo a las técnicas de fijación y corte empleadas. En el grupo I (TABLA 1) se aplicaron las técnicas aprendidas inicialmente en el Laboratorio de Embriología en el que se ha llevado a cabo este trabajo. En el grupo II (TABLA 2) las técnicas empleadas en el grupo I fueron perfeccionadas tras mi estancia en el "Laboratoire d'anatomie et d'organogenèse du C.H.U. Pitié-Salpêtrière" de Paris (Francia) que dirige el Dr. Xavier Dor.

GRUPO I.

Un total de 68 corazones (TABLA 1) fueron fijados por inmersión en glutaraldehído al 2% durante 24 h. a 4° C:

- 19 en el E 25.
- 21 en el E 30.
- 28 en el E 35 de HH.

La fijación presentó algunas peculiaridades según el estadio en que se realizó:

- Estadio 25 HH: la mitad de los embriones fueron fijados in toto; en la otra mitad se fijó el corazón una vez disecado bajo una lupa estereoscópica.

- Estadio 30 HH: en todos se fijó el corazón una vez disecado.

- Estadio 35 HH: antes de fijar el corazón por inmersión se realizó una perfusión-fijación a través de la aurícula izquierda,

para lo que se clavó al embrión por sus extremidades en una placa de corcho y se le practicó una toracotomía media, perfundiéndole 1) heparina sódica al 1% diluida en tampón fosfato de Sorensen a partes iguales para limpiar las cavidades del corazón; 2) glutaraldehído al 2% para fijar al corazón internamente. La perfusión-fijación se realizó mediante una micropipeta de vidrio, obtenida a partir de un capilar de vidrio de 1'5 mm de diámetro, fabricada con un "puller" (PUL-1 WPI de W-P INSTRUMENT, INC), acoplada mediante tres tubos de plástico de diferente diámetro a una jeringuilla de insulina. Posteriormente, los corazones fueron disecados y fijados por inmersión en glutaraldehído al 2%.

Una vez fijados, se lavaron en tampón fosfato de Sorensen tres veces, 10 min. cada vez, conservándose en tampón a 4° C hasta ser cortados por congelación.

Antes de ser cortados, con el fin de evitar la formación de cristales intracelulares durante el proceso de congelación, se pasaron por tres disoluciones crecientes de sucrosa en tampón fosfato de Sorensen a 4° C durante los siguientes tiempos: sucrosa al 7% x 3 h., sucrosa al 12% x 6 h. y sucrosa al 18% x 12 h.

Los corazones (50% de embriones en el estadio 25 HH) fueron cortados por congelación en un criostato (KRYOSTAT 1720 digital) siguiendo los tres ejes del espacio.

Posteriormente se pasaron por tres disoluciones decrecientes de sucrosa en tampón fosfato de Sorensen a 4° C durante los siguientes tiempos: sucrosa al 18% x 3 h., sucrosa al 12% x 6 h. y sucrosa al 7% x 12 h., transcurridas las cuales

se cambiaron a tampón fosfato de Sorensen, conservándose en el mismo hasta proceder a su deshidratación.

Los corazones de los estadios 25 y 30 HH, no sometidos a la perfusión-fijación a través de la AI por las dificultades técnicas que plantea, se limpiaron, una vez cortados, con tampón fosfato de Sorensen, empleando una micropipeta acoplada a una jeringuilla de insulina análoga a la empleada en la perfusión-fijación de los embriones correspondientes al estadio 35 HH.

GRUPO II.

En este grupo nos planteamos estudiar los procesos de trabeculización y septación ventricular desde sus inicios (E 17 HH) hasta el estadio de corazón maduro (E 35 HH), para lo que un total de 95 embriones (TABLA 2) fueron fijados cada 12 h. entre los días 2½ y 9 de incubación.

Los embriones de 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½ y 7 d. fueron fijados del siguiente modo:

- Una vez extraídos del huevo, lavados y estadiados, fueron depositados en una placa de Petri con tampón fosfato de Sorensen a 37-38° C y observados a la lupa.

- Se cortaron transversalmente con unas tijeras a nivel del cordón umbilical desechándose el fragmento caudal.

- Sujetando el fragmento craneal con una pinzas dispuestas entre la cabeza y las extremidades superiores, se perfundió a través de la aorta dorsal, mediante una aguja Hamilton de 0'3 mm de diámetro acoplada a una jeringuilla de 2 cc de capacidad, lo siguiente: 1) Heparina sódica al 1% diluida en tampón fosfato de

Sorensen a partes iguales para limpiar el corazón. 2) Lidocaína al 2% diluida en tampón fosfato de Sorensen a partes iguales para paralizar el corazón. 3) Glutaraldehído al 2% para fijar internamente el corazón.

- Una vez realizada la perfusión-fijación a través de la aorta dorsal los corazones fueron disecados y fijados por inmersión en glutaraldehído al 2% durante 24 h. a 4° C.

Los embriones de 7½, 8, 8½ y 9 d. fueron fijados de modo análogo al descrito, con la salvedad de que la perfusión-fijación se realizó vía hepática.

Una vez fijados, los corazones fueron lavados en tampón fosfato de Sorensen y cortados mediante el empleo de una cuchilla (Filomatic supercromo) siguiendo los tres ejes del espacio.

Las ventajas del grupo II respecto al I son:

- La técnica de perfusión-fijación (a través de la aorta dorsal en embriones jóvenes y vía hepática en embriones mayores) asociada a fijación por inmersión permite obtener preparaciones de una mayor calidad para su estudio a MEB.

- El corte de los corazones mediante el empleo de una cuchilla permite el procesado y estudio de las dos mitades obtenidas, mientras que en el corte por congelación, al realizarse por desgaste de la pieza, se pierde información al desperdiciarse una de las dos mitades.

Los embriones de ambos grupos, una vez cortados, fueron deshidratados en cambios sucesivos de acetonas y preparados para

ser desecados en el punto crítico:

- Acetona al 35% x 15 min.
- Acetona al 50% x 15 min.
- Acetona al 70% x 15 min.
- Acetona al 90% x 15 min.
- Acetona absoluta x 30 min.
- Acetona absoluta anhidra x 30 min.
- Acetona absoluta anhidra + acetato de amilo x 5 min.
- Acetato de amilo x 2 x 5 min.

Finalmente fueron desecados en un sistema de punto crítico (HITACHI CRITICAL POINT DRIER HCP-1), montados en portamuestras para MEB, cubiertos con oro en un "sputtering" (FINE COAT ION SPUTTER JFC-1100), observados al MEB (JEOL JSM-35 CF) y fotografiados mediante una cámara fotográfica automática acoplada al MEB (MAMIYA 6 x 7).

La práctica totalidad de las fotos han sido obtenidas con la cámara fotográfica automática acoplada al MEB. Sin embargo, en casos muy concretos hemos tenido que recurrir al empleo de una cámara semiautomática montada en un trípode, para sacar directamente de la pantalla del MEB determinados detalles de interés que por no estar lo suficientemente sombreados no los conseguimos fotografiar con la primera cámara. En el apartado correspondiente a los "resultados" nos referiremos a dichas fotos como "sacadas directamente de la pantalla".

3.- TESTIGOS DE TIRODE.

A los embriones de este grupo (TABLAS 3, 4 y 5) se les inyectó a través de una rama subsidiaria de la vena vitelina derecha 2'5 μ l de tirode en los estadios 22, 25 y 29 HH, siendo reincubados hasta alcanzar el E 35 HH.

La técnica empleada para la inyección del tirode, puesta a punto por PÉREZ DE MIGUELSANZ (1987), fue la siguiente:

- Se saca el huevo de la incubadora una vez alcanzado el estadio teórico deseado (previamente se ha realizado la extracción de la albúmina) y se coloca bajo una lupa estereoscópica con la ventana superior (Fig. 6: 2) hacia arriba.

- Se retira el papel de parafilm que cubría dicha ventana observándose detenidamente al embrión para descartar cualquier posible malformación que pudiera presentar, en cuyo caso es desechado.

- Una vez comprobado el buen estado del embrión, se selecciona una bifurcación, lo más periférica posible, de una rama de la vena vitelina derecha (la vena se diferencia de la arteria a la que está adosada por que es superficial respecto a la misma, y de un color más o menos rojo frente al más o menos purpúrea de la arteria). Previamente se ha calibrado una micropipeta con dos marcas de 2'5 μ l, acoplado a una jeringuilla de insulina y cargado con 5 μ l de tirode (ver Controles de MEB - Grupo I).

- Una vez seleccionada la bifurcación y cargada la micropipeta, se perfunden lentamente 2'5 μ l de tirode. Al haber cargado la micropipeta con 5 μ l evitamos inyectar aire.

- Una vez terminada la perfusión, al retirar la micropipeta,

con frecuencia se produce una hemorragia. Para detenerla hemos utilizado anticoagulantes locales del tipo del "papel de Espongostán" (Son láminas de gelatina purificada y esterilizada; su utilización no presenta contraindicaciones, efectos secundarios, incompatibilidades o toxicidad). Así, en caso de hemorragia, recortamos un trocito de papel de Espongostán y con unas pinzas lo colocamos en el lugar de la hemorragia obteniendo la coagulación de la misma en la mayoría de los casos.

- Se tapa de nuevo la ventana superior (Fig. 6: 2) con papel de parafilm, se sella con parafina líquida y se reincuba el huevo hasta alcanzar el E 35 HH.

Los embriones fueron procesados para su estudio a MO y MEB.

Las técnicas de MEB utilizadas son las mismas que las ya descritas en la obtención de los "controles de MEB".

4.- TESTIGOS DE HEPARINA.

A los embriones de este grupo (TABLAS 6, 7 y 8) se les inyectó a través de una rama subsidiaria de la vena vitelina derecha una cantidad determinada de heparina diluida en 2'5 μ l de tirode en los estadíos 22, 25 y 29 HH, siendo reincubados hasta alcanzar el E 35 HH.

La técnica empleada para inyectar la heparina + tirode es la misma que la ya descrita en la obtención de los "testigos de tirode".

La cantidad de heparina inyectada varió según el estadio intervenido:

- 0'076 μ l en el E 22 HH.
- 0'16 μ l en el E 25 HH.
- 0'28 μ l en el E 29 HH.

Estas cantidades se corresponden con las de la heparina diluida en el 25% del volumen total de sangre circulante inyectada a los "embriones operados".

El cálculo de estas cantidades se basó en una sencilla regla de tres, partiendo de la base de que por cada 500 μ l de sangre obtenida a partir de un "embrión donante" empleamos 2 μ l de heparina como anticoagulante. Así, la regla de tres queda como sigue:

500 μ l sangre	-	2 μ l heparina
25% sangre (μ l)	-	X

Si despejamos la X obtenemos la siguiente tabla:

	25% (μ l)	X = heparina (μ l)
E 22 HH	19	0'076
E 25 HH	40	0'16
E 29 HH	70	0'28

Los embriones fueron procesados para su estudio a MO y MEB.

Las técnicas de MEB utilizadas son las mismas que las ya descritas en la obtención de los "controles de MEB".

5. - EMBRIONES DONANTES.

Los huevos utilizados en este grupo fueron limpiados e incubados hasta los 12-16 d. de incubación (no se realizó la extracción de albúmina), momento en el que se procedió a la extracción de sangre del modo descrito a continuación:

- Se abre el huevo con una lanceta por su cámara de aire y se recorta la cáscara hasta llegar al límite de la cámara.

- Con unas pinzas se levanta cuidadosamente la membrana testácea y la serosa corioalantoidea.

- Se localiza un vaso corioalantoideo grueso y se diseca utilizando unas pinzas de relojero.

- Con unas pinzas curvas se tracciona del mismo y se saca del huevo colocándose sobre un frasco estéril; se realiza un pequeño corte con lo que comienza la sangre a gotear.

- Una vez extraída la sangre el embrión donante es desechado.

Dependiendo de la edad del embrión se suele recoger entre 500 y 1.500 μ l de sangre.

Para ganar tiempo en nuestras investigaciones tratamos de crear un banco de sangre de embrión de pollo mediante el empleo de una disolución anticoagulante de las empleadas en los bancos de sangre humanos. Empleamos tres tipos de disoluciones anticoagulantes ("CPD sangre total", "CPD-Adenina" y "Sag-Manitol") sin obtener resultados positivos por lo que desechamos la idea.

Los mejores resultados los obtuvimos añadiendo 2 μ l de heparina sódica al 1% por cada 500 μ l de sangre, y empleando la

sangre, conservada a temperatura ambiente, durante 1 h. como mucho.

La elevada cantidad de embriones utilizados como donantes (480) fue debido a:

- La mortalidad espontánea presentada por parte de los embriones incubados.

- La dificultad técnica que representa disecar en condiciones un vaso corioalantoideo, así como obtener la cantidad de sangre necesaria y que dicha sangre no se mezcle durante su obtención, fundamentalmente con la albúmina.

- Durante el tiempo óptimo de conservación de la sangre extraída, 1 h., como mucho disponemos de tiempo para operar (para aumentar el volumen total de sangre circulante) a dos embriones.

6. - EMBRIONES OPERADOS.

A los embriones de este grupo (TABLAS 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17) se les inyectó a través de una rama de la vena vitelina derecha tres volúmenes estándar diferentes de sangre en los estadios 22, 25 y 29 HH, siendo posteriormente reincubados hasta el E 35 HH.

Los volúmenes estándar inyectados fueron los correspondientes al 7, 15 y 25% del volumen total de sangre circulante en los estadios 22, 25 y 29 HH. Estos volúmenes fueron calculados a partir de los datos tomados del trabajo de RYCHTER y col. (1955) en el que calculan el volumen total circulante en el embrión de pollo cada 12 h. de incubación. El procedimiento seguido para calcularlos fue el siguiente:

- A partir del volumen total circulante calculamos el 7, 15 y 25% del mismo obteniendo la siguiente tabla:

	Vol circ (µl)	7% (µl)	15% (µl)	25% (µl)
3 d.	44	3'08	6'6	11
3½ d.	64	4'48	9'6	16
4 d.	84	5'88	12'6	21
4½ d.	135'5	9'48	20'32	33'87
5 d.	187	13'09	28'05	46'75
5½ d.	216'5	15'15	32'47	54'12
6 d.	246	17'22	36'09	61'5
6½ d.	309	21'63	46'35	77'25
7 d.	372	26'04	55'8	93

- Como, por ejemplo, el E 22 HH comprende los embriones de

3½-4 d. de incubación, lo que hicimos fue sumar los tres porcentajes correspondientes a 3½ d. de incubación con los de 4 d. y dividirlo entre dos. Lo mismo hicimos en los estadíos 25 y 29 HH. Dadas las dificultades técnicas que nos plantea el calibrar las micropipetas utilizadas para inyectar la sangre considerando números decimales hicimos una aproximación por exceso. Así, los volúmenes de sangre que hemos inyectados son:

	7% (µl)	15% (µl)	25% (µl)
E 22 HH (3½-4 d.)	5'18 ≈ 6	11'1 ≈ 12	18'5 ≈ 19
E 25 HH (4½-5 d.)	11'28 ≈ 12	24.18 ≈ 25	40'31 ≈ 41
E 29 HH (6-6½ d.)	19'42 ≈ 20	41'22 ≈ 42	69'37 ≈ 70

La técnica empleada para inyectar la sangre es la misma que la ya descrita en la obtención de los "testigos de tirode" y los "testigos de heparina".

El tiempo empleado en la intervención (desde que el huevo se saca de la incubadora hasta que es reincubado) varió dependiendo del aumento de volumen practicado y del estadio de intervención.

Los tiempos empleados en la intervención de los embriones de los estadíos 22, 25 y 29 HH fueron:

E 22 HH	t mín	t máx	tm
↑ 7%	5'	18'	7'
↑ 15%	5'	13'	7'
↑ 25%	11'	16'	13'

E 25 HH	t mín	t máx	tm
↑ 7%	6'	18'	10'
↑ 15%	7'	30'	14'
↑ 25%	10'	30'	16'

E 29 HH	t mín	t máx	tm
↑ 7%	5'	12'	8'
↑ 15%	10'	25'	11'
↑ 25%	15'	25'	19'

t mín: tiempo mínimo; t máx: tiempo máximo; tm: tiempo medio.

Los embriones fueron procesados para su estudio a MO y MEB.

Las técnicas de MEB utilizadas son las mismas que las ya descritas en la obtención de los "controles de MEB".

7. - TESTIGOS EN BLANCO.

Por cada 10 huevos destinados a ser utilizados como "testigos de tirode", "testigos de heparina" o "embriones operados" incubábamos 2 "testigos en blanco".

Los huevos destinados a ser "testigos en blanco" eran limpiados, incubados y sometidos a extracción de albúmina, siendo reincubados hasta el E 35 HH.

La finalidad de este grupo fue la de descartar una serie de factores exógenos que pueden influir negativamente en el desarrollo del embrión, pudiendo distorsionar nuestras investigaciones. Entre dichos factores se encuentran:

- Desconocimiento del tiempo transcurrido desde la puesta del huevo hasta que es incubado, dado que no disponemos de animalario y los huevos se compraron en una avícola.

- Posibles trastornos que puedan ser ocasionados en el transporte y almacenamiento de los huevos tanto por parte de la avícola como por parte nuestra.

- Contaminaciones virales, bacterianas y/o micóticas.

- Trastornos ocasionados como consecuencia de la extracción de la albúmina.

- Variaciones de las condiciones de humedad y temperatura durante la incubación.

En el E 35 HH los "testigos en blanco" eran examinados y desechados.

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LAS TABLA 1 Y 2.

E: Estadío.

F: cortado frontalmente con cuchilla.

FA: cortado frontalmente por congelación, fragmento dorsal, visión ventral.

FP: cortado frontalmente por congelación, fragmento ventral, visión dorsal.

HH: Hamburger-Hamilton.

McI y McII: "M" de Murillo, "c" de control, "I" de grupo I y "II" de grupo II.

SD: cortado parasagitalmente por su lado derecho por congelación, fragmento izquierdo, visión derecha.

SI: cortado parasagitalmente por su lado izquierdo por congelación, fragmento derecho, visión izquierda.

T: cortado transversalmente con cuchilla.

A continuación del nombre dado a los embriones de la TABLA I correspondientes al e 25 HH, entre paréntesis, se observan dos abreviaturas:

- **emb**: embrión fijado y cortado in toto.
- **cor**: corazón fijado una vez disecado.

TABLA 1.

CONTROLES DE MEB: GRUPO I.

NOMBRE	ESTADIO HH	TIPO DE CORTE
McI 41 (emb)	E 25	SD
McI 42 (cor)	E 25	FP
McI 43 (cor)	E 25	SI
McI 45 (cor)	E 25	FP
McI 46 (cor)	E 25	SD
McI 47 (emb)	E 25	SD
McI 48 (cor)	E 25	FA
McI 49 (cor)	E 25	SI
McI 50 (emb)	E 25	SI
McI 51 (cor)	E 25	FA
McI 52 (cor)	E 25	SI
McI 53 (emb)	E 25	SD
McI 54 (emb)	E 25	FP
McI 55 (cor)	E 25	FP
McI 88 (emb)	E 25	SD
McI 89 (emb)	E 25	SI
McI 90 (emb)	E 25	SD
McI 91 (emb)	E 25	FA
McI 92 (emb)	E 25	FA
McI 56	E 30	FA
McI 57	E 30	FA
McI 58	E 30	FA
McI 59	E 30	FA
McI 60	E 30	FA
McI 62	E 30	FA
McI 63	E 30	FA
McI 6a	E 30	FA
McI 65	E 30	FP
McI 66	E 30	FP
McI 67	E 30	FP
McI 68	E 30	FA
McI 69	E 30	SD
McI 70	E 30	SI
McI 71	E 30	SI
McI 82	E 30	FP
McI 83	E 30	SI
McI 84	E 30	SI
McI 85	E 30	SI
McI 86	E 30	FP
McI 87	E 30	SD
McI 1	E 35	FA
McI 2	E 35	FA
McI 3	E 35	SD
McI 4	E 35	SI
McI 5	E 35	FA
McI 10	E 36	SI
McI 16	E 36	SD
McI 18	E 35	SD
McI 19	E 35	SD
McI 20	E 36	SD
McI 21	E 35	SD

NOMBRE	ESTADIO HH	TIPO DE CORTE
McI 25	E 37	SI
McI 26	E 37	SI
McI 27	E 37	SI
McI 28	E 37	SI
McI 29	E 35+	FP
McI 30	E 35+	FP
McI 31	E 36	FP
McI 32	E 36	FP
McI 33	E 36	FA
McI 35	E 35	FA
McI 36	E 36	FA
McI 39	E 36	FA
McI 40	E 36	FP
McI 72	E 36	SD
McI 75	E 36	SD
McI 76	E 36	SI
McI 80	E 36	FP

TABLA 2 .

CONTROLES DE MEB: GRUPO II .

NOMBRE	ESTADIO HH	TIPO DE CORTE
McII 1	E 17	F
McII 2	E 17	F
McII 3	E 17	F
McII 4	E 17	F
McII 5	E 17	F
McII 6	E 18	F
McII 7	E 18	F
McII 8	E 18	F
McII 9	E 18	F
McII 10	E 18	F
McII 11	E 19	F
McII 12	E 19	F
McII 13	E 19	F
McII 14	E 19	F
McII 15	E 19	F
McII 16	E 20	F
McII 17	E 20	F
McII 18	E 20	F
McII 19	E 20	F
McII 20	E 20	F
McII 21	E 21	F
McII 22	E 21	F
McII 23	E 21	F
McII 24	E 21	F
McII 25	E 21	F
McII 26	E 22	F
McII 27	E 22	F
McII 28	E 22	F
McII 29	E 22	F
McII 30	E 22	F
McII 31	E 23	F
McII 32	E 23	F
McII 33	E 23	F
McII 34	E 23	F
McII 35	E 23	F
McII 36	E 24	F
McII 37	E 24	F
McII 38	E 24	F
McII 39	E 24	F
McII 40	E 24	F
McII 41	E 25	F
McII 42	E 25	F
McII 43	E 25	F
McII 44	E 25	F
McII 45	E 25	F
McII 46	E 26	F
McII 47	E 26	F
McII 48	E 26	F
McII 49	E 26	F
McII 50	E 26	F
McII 51	E 27	F

NOMBRE	ESTADIO HH	TIPO DE CORTE
McII 52	E 27	F
McII 53	E 27	F
McII 54	E 27	F
McII 55	E 27	F
McII 56	E 28	F
McII 57	E 28	F
McII 58	E 28	F
McII 59	E 28	F
McII 60	E 28	F
McII 61	E 29	F
McII 62	E 29	F
McII 63	E 29	F
McII 64	E 29	T
McII 65	E 29	T
McII 66	E 30	F
McII 67	E 30	F
McII 68	E 30	F
McII 69	E 30	T
McII 70	E 30	T
McII 71	E 31	F
McII 72	E 31	F
McII 73	E 31	F
McII 74	E 31	T
McII 75	E 31	T
McII 76	E 32	F
McII 77	E 32	F
McII 78	E 32	F
McII 79	E 32	T
McII 80	E 32	T
McII 81	E 33	F
McII 82	E 33	F
McII 83	E 33	F
McII 84	E 33	T
McII 85	E 33	T
McII 86	E 34	F
McII 87	E 34	F
McII 88	E 34	F
McII 89	E 34	T
McII 90	E 34	T
McII 91	E 35	F
McII 92	E 35	F
McII 93	E 35	F
McII 94	E 35	T
McII 95	E 35	T

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LAS TABLAS 3, 4 Y 5.

(+): muerto.

E.F.: estadio de fijación.

E.O.: estadio de intervención.

F: cortado frontalmente con cuchilla.

FA: cortado frontalmente por congelación, fragmento dorsal,
visión ventral.

FP: cortado frontalmente por congelación, fragmento ventral,
visión dorsal.

MEB: microscopía electrónica de barrido.

MO: microscopía óptica.

n.c.: no considerado.

Mt: "M" de Murillo y "t" de tirode.

SD: cortado parasagitalmente por su lado derecho por congelación,
fragmento izquierdo, visión derecha.

T: cortado transversalmente con cuchilla.

TABLA 3 .

**TESTIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS
EN EL ESTADIO 22 HH .**

NOMBRE	E.O.	E.F.	PROCESADO
Mt 33	22	35	MO
Mt 34	22	(+)	-
Mt 35	22	-	MO
Mt 36	22	35	F → MEB
Mt 37	22	35	MO
Mt 38	22	(+)	-
Mt 56	22	n.c.	-
Mt 57	22	(+)	-
Mt 58	22	n.c.	-
Mt 59	22	35	F → MEB
Mt 60	22	35	F → MEB
Mt 61	22	(+)	-
Mt 62	22	(+)	-
Mt 63	22	35	MO
Mt 64	22	35	MO
Mt 65	22	35	MO
Mt 66	22	35	F → MEB
Mt 67	22	35	T → MEB
Mt 68	22	35	F → MEB
Mt 69	22	35	F → MEB
Mt 70	22	35	F → MEB
Mt 71	22	35	F → MEB
Mt 72	22	35	T → MEB
Mt 73	22	35	F → MEB
Mt 74	22	(+)	-
Mt 75	22	35	T → MEB
Mt 76	22	n.c.	-
Mt 77	22	n.c.	-
Mt 78	22	35	F → MEB
Mt 79	22	(+)	-
Mt 80	22	35	F → MEB
Mt 81	22	(+)	-
Mt 82	22	35	F → MEB
Mt 83	22	35	T → MEB

TABLA 4 .

TESTIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 25 HH .

NOMBRE	E.O.	E.F.	PROCESADO
Mt 5	25	35	MO
Mt 6	25	n.c.	-
Mt 7	25	(+)	-
Mt 8	25	35	FA → MEB
Mt 9	25	n.c.	-
Mt 10	25	(+)	-
Mt 11	25	35	FA → MEB
Mt 12	25	35+	FA → MEB
Mt 13	25	35+	FA → MEB
Mt 14	25	35	FP → MEB
Mt 15	25	35+	FP → MEB
Mt 16	25	(+)	-
Mt 17	25	35	SD → MEB
Mt 18	25	36	F → MEB
Mt 19	25	36	F → MEB
Mt 20	25	36	F → MEB
Mt 21	25	36	F → MEB
Mt 22	25	36	F → MEB
Mt 23	25	36	T → MEB
Mt 24	25	36	F → MEB
Mt 25	25	n.c.	-
Mt 26	25	n.c.	-
Mt 27	25	n.c.	-
Mt 28	25	n.c.	-
Mt 29	25	35+	MO
Mt 30	25	35+	MO
Mt 31	25	35+	MO
Mt 32	25	35+	MO

TABLA 5.

TESTIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 29 HH.

NOMBRE	E.O.	E.F.	PROCESADO
Mt 1	29	35	FA → MEB
Mt 2	29	35+	FA → MEB
Mt 3	29	(+)	-
Mt 4	29	35	FA → MEB
Mt 39	29	35	F → MEB
Mt 40	29	35	F → MEB
Mt 41	29	35	F → MEB
Mt 42	29	35	F → MEB
Mt 43	29	35	T → MEB
Mt 44	29	35	F → MEB
Mt 45	29	35	F → MEB
Mt 46	29	n.c.	-
Mt 47	29	35	T → MEB
Mt 48	29	35+	MO
Mt 49	29	(+)	-
Mt 50	29	(+)	-
Mt 51	29	(+)	-
Mt 52	29	35+	MO
Mt 53	29	(+)	-
Mt 54	29	36	MO
Mt 55	29	36	MO

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LAS TABLAS 6, 7 Y 8.

(+): muerto.

E.F.: estadio de fijación.

E.O.: estadio de intervención.

F: cortado frontalmente con cuchilla.

FA: cortado frontalmente por congelación, fragmento dorsal,
visión ventral.

FP: cortado frontalmente por congelación, fragmento ventral
visión dorsal.

MEB: microscopía electrónica de barrido.

MO: microscopía óptica.

n.c.: no considerado.

Mh: "M" de Murillo y "h" de heparina.

SD: cortado parasagitalmente por su lado derecho por congelación,
fragmento izquierdo, visión derecha.

SI: cortado parasagitalmente por su lado izquierdo por
congelación, fragmento derecho, visión izquierda.

T: cortado transversalmente con cuchilla.

TABLA 6 .

TESTIGOS DE HEPARINA INTERVENI- DOS EN EL ESTADIO 22 HH .

NOMBRE	E.O.	E.F.	PROCESADO
Mh 56	22	n.c.	-
Mh 67	22	(+)	-
Mh 68	22	(+)	-
Mh 69	22	(+)	-
Mh 70	22	n.c.	-
Mh 71	22	n.c.	-
Mh 72	22	(+)	-
Mh 73	22	(+)	-
Mh 74	22	n.c.	-
Mh 75	22	n.c.	-
Mh 76	22	(+)	-
Mh 77	22	(+)	-
Mh 78	22	(+)	-
Mh 79	22	(+)	-
Mh 80	22	(+)	-
Mh 81	22	(+)	-
Mh 82	22	(+)	-
Mh 83	22	(+)	-
Mh 84	22	(+)	-
Mh 85	22	(+)	-
Mh 86	22	(+)	-
Mh 87	22	35	MO
Mh 88	22	35	MO
Mh 89	22	(+)	-
Mh 90	22	35	MO
Mh 91	22	35	MO
Mh 92	22	35	MO
Mh 93	22	n.c.	-
Mh 94	22	35	FA → MEB
Mh 95	22	35	FA → MEB
Mh 96	22	35	F → MEB
Mh 97	22	n.c.	-
Mh 98	22	35	F → MEB
Mh 99	22	n.c.	-
Mh 100	22	35	F → MEB
Mh 101	22	36	T → MEB
Mh 102	22	36	T → MEB
Mh 103	22	36	F → MEB
Mh 104	22	35	F → MEB
Mh 105	22	36	F → MEB
Mh 106	22	35	T → MEB
Mh 107	22	35	F → MEB
Mh 108	22	35	T → MEB
Mh 109	22	35	F → MEB
Mh 110	22	35	F → MEB
Mh 111	22	35	F → MEB
Mh 112	22	35	T → MEB
Mh 113	22	35	F → MEB

TABLA 7 .

**TESTIGOS DE HEPARINA INTERVENI-
DOS EN EL ESTADIO 25 HH .**

NOMBRE	E.O.	E.F.	PROCESADO
Mh 1	25	35	FA → MEB
Mh 2	25	(+)	-
Mh 3	25	n.c.	-
Mh 4	25	(+)	-
Mh 5	25	35	FA → MEB
Mh 6	25	(+)	-
Mh 7	25	(+)	-
Mh 8	25	n.c.	-
Mh 9	25	36	FA → MEB
Mh 10	25	36	SI → MEB
Mh 11	25	n.c.	-
Mh 12	25	n.c.	-
Mh 13	25	n.c.	-
Mh 14	25	(+)	-
Mh 15	25	36	SD → MEB
Mh 16	25	(+)	-
Mh 17	25	36	FA → MEB
Mh 18	25	n.c.	-
Mh 19	25	35	FA → MEB
Mh 20	25	36	FA → MEB
Mh 21	25	(+)	-
Mh 22	25	(+)	-
Mh 23	25	36	SD → MEB
Mh 24	25	36	SD → MEB
Mh 25	25	35	FA → MEB
Mh 26	25	(+)	-
Mh 27	25	n.c.	-
Mh 28	25	36	FA → MEB
Mh 29	25	35	SI → MEB
Mh 30	25	35	FP → MEB
Mh 31	25	35	MO
Mh 32	25	35	MO
Mh 33	25	35	MO
Mh 57	25	n.c.	-
Mh 58	25	n.c.	-
Mh 59	25	n.c.	-
Mh 60	25	n.c.	-
Mh 61	25	n.c.	-
Mh 62	25	(+)	-
Mh 63	25	35	MO
Mh 64	25	(+)	-
Mh 65	25	35	MO
Mh 66	25	35	FP → MEB

TABLA 8.

TESTIGOS DE HEPARINA INTERVENI- DOS EN EL ESTADIO 29 HH.

NOMBRE	E.O.	E.F.	PROCESADO
Mh 34	29	35	FA → MEB
Mh 35	29	35	FA → MEB
Mh 36	29	35	FA → MEB
Mh 37	29	35	FA → MEB
Mh 38	29	35	SD → MEB
Mh 39	29	35	MO
Mh 40	29	35	SD → MEB
Mh 41	29	35	SD → MEB
Mh 42	29	35	SI → MEB
Mh 43	29	(+)	-
Mh 44	29	n.c.	-
Mh 45	29	31	FP → MEB
Mh 46	29	(+)	-
Mh 47	29	(+)	-
Mh 48	29	35	FP → MEB
Mh 49	29	35	MO
Mh 50	29	35	MO
Mh 51	29	35	MO
Mh 52	29	(+)	-
Mh 53	29	35	MO
Mh 54	29	(+)	-
Mh 55	29	35	FP → MEB

**ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LAS
TABLAS 9, 10, 11, 12, 13, 14,
15, 16 y 17.**

↑: volumen de sangre inyectado.

(+): muerto.

E.F.: estadio de fijación.

E.O.: estadio de intervención.

F: cortado frontalmente con cuchilla.

FA: cortado frontalmente por congelación, fragmento dorsal,
visión ventral.

FP: cortado frontalmente por congelación, fragmento ventral,
visión dorsal.

MEB: microscopía electrónica de barrido.

MO: microscopía óptica.

Mo: "M" de Murillo y "o" de operado.

n.c.: no considerado.

PERDIDO: perdido durante el procesado.

SD: cortado parasagitalmente por su lado derecho por
congelación, fragmento izquierdo, visión derecha.

SI: cortado parasagitalmente por su lado izquierdo por
congelación, fragmento derecho, visión izquierda.

T: cortado transversalmente con cuchilla.

TABLA 9.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
22 HH: ↑ 7%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 204	22	7%	(+)	-
Mo 205	22	7%	35	F → MEB
Mo 206	22	7%	35	T → MEB
Mo 207	22	7%	35	F → MEB
Mo 208	22	7%	35	F → MEB
Mo 209	22	7%	35	T → MEB
Mo 210	22	7%	(+)	-
Mo 211	22	7%	35	F → MEB
Mo 212	22	7%	35	MO
Mo 213	22	7%	n.c.	-
Mo 220	22	7%	(+)	-
Mo 221	22	7%	(+)	-
Mo 222	22	7%	(+)	-
Mo 223	22	7%	35	F → MEB
Mo 224	22	7%	35	F → MEB
Mo 225	22	7%	35	F → MEB
Mo 226	22	7%	35	T → MEB
Mo 227	22	7%	35	F → MEB
Mo 228	22	7%	35	F → MEB
Mo 229	22	7%	35	MO
Mo 230	22	7%	(+)	-
Mo 231	22	7%	(+)	-
Mo 232	22	7%	35	MO
Mo 236	22	7%	35	MO
Mo 237	22	7%	35	MO
Mo 238	22	7%	35	F → MEB
Mo 239	22	7%	35	F → MEB

TABLA 10.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
22 HH: ↑ 15%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 240	22	15%	35	F → MEB
Mo 241	22	15%	35	F → MEB
Mo 242	22	15%	35	F → MEB
Mo 243	22	15%	(+)	-
Mo 244	22	15%	35	F → MEB
Mo 249	22	15%	(+)	-
Mo 250	22	15%	(+)	-
Mo 265	22	15%	n.c.	-
Mo 266	22	15%	27	MO
Mo 267	22	15%	(+)	-
Mo 268	22	15%	(+)	-
Mo 269	22	15%	(+)	-
Mo 270	22	15%	(+)	-
Mo 271	22	15%	(+)	-
Mo 272	22	15%	(+)	-
Mo 273	22	15%	(+)	-
Mo 274	22	15%	(+)	-
Mo 275	22	15%	(+)	-
Mo 276	22	15%	(+)	-
Mo 277	22	15%	(+)	-
Mo 278	22	15%	(+)	-
Mo 279	22	15%	35	F → MEB
Mo 280	22	15%	35	T → MEB
Mo 281	22	15%	35	F → MEB
Mo 282	22	15%	(+)	-
Mo 283	22	15%	35	F → MEB
Mo 284	22	15%	35	F → MEB
Mo 285	22	15%	35	F → MEB
Mo 286	22	15%	35	MO
Mo 287	22	15%	35	MO
Mo 288	22	15%	35	MO
Mo 303	22	15%	(+)	-
Mo 304	22	15%	(+)	-
Mo 305	22	15%	(+)	-
Mo 306	22	15%	35	MO

TABLA 11.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
22 HH: ↑ 25%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 289	22	25%	35	F → MEB
Mo 290	22	25%	(+)	-
Mo 291	22	25%	35	F → MEB
Mo 292	22	25%	35	T → MEB
Mo 293	22	25%	35	F → MEB
Mo 294	22	25%	35	F → MEB
Mo 295	22	25%	35	F → MEB
Mo 296	22	25%	35	F → MEB
Mo 297	22	25%	35	F → MEB
Mo 298	22	25%	35	T → MEB
Mo 299	22	25%	n.c.	-
Mo 300	22	255	(+)	-
Mo 301	22	25%	35	MO
Mo 302	22	25%	35	MO

TABLA 12.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
25 HH: ↑ 7%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 36	25	7%	n.c.	-
Mo 37	25	7%	35	FA → MEB
Mo 38	25	7%	n.c.	-
Mo 39	25	7%	(+)	-
Mo 40	25	7%	(+)	-
Mo 41	25	7%	35	FA → MEB
Mo 42	25	7%	35	PERDIDO
Mo 43	25	7%	n.c.	-
Mo 44	25	7%	35	FA → MEB
Mo 45	25	7%	35	SD → MEB
Mo 46	25	7%	(+)	-
Mo 47	25	7%	(+)	-
Mo 48	25	7%	35	PERDIDO
Mo 49	25	7%	n.c.	-
Mo 50	25	7%	n.c.	-
Mo 51	25	7%	n.c.	-
Mo 52	25	7%	(+)	-
Mo 53	25	7%	(+)	-
Mo 54	25	7%	(+)	-
Mo 55	25	7%	(+)	-
Mo 56	25	7%	35	PERDIDO
Mo 57	25	7%	(+)	-
Mo 58	25	7%	36	FA → MEB
Mo 59	25	7%	(+)	-
Mo 60	25	7%	35	PERDIDO
Mo 61	25	7%	35	PERDIDO
Mo 62	25	7%	35	PERDIDO
Mo 63	25	7%	35	FA → MEB
Mo 64	25	7%	(+)	-
Mo 65	25	7%	(+)	-
Mo 66	25	7%	37	FP → MEB
Mo 86	25	7%	(+)	-
Mo 87	25	7%	(+)	-
Mo 88	25	7%	35	SD → MEB
Mo 89	25	7%	36	SI → MEB
Mo 90	25	7%	(+)	-
Mo 91	25	7%	n.c.	-
Mo 92	25	7%	n.c.	-
Mo 93	25	7%	35	PERDIDO
Mo 94	25	7%	35	MO
Mo 95	25	7%	35	MO
Mo 96	25	7%	(+)	-
Mo 97	25	7%	(+)	-
Mo 98	25	7%	35	MO
Mo 99	25	7%	35	MO
Mo 100	25	7%	35	MO
Mo 101	25	7%	(+)	-
Mo 102	25	7%	35	SI → MEB

TABLA 13.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
25 HH: ↑ 15%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 1	25	15%	n.c.	-
Mo 2	25	15%	36	PERDIDO
Mo 3	25	15%	n.c.	-
Mo 4	25	15%	(+)	-
Mo 5	25	15%	35	FA → MEB
Mo 6	25	15%	n.c.	-
Mo 7	25	15%	(+)	-
Mo 8	25	15%	(+)	-
Mo 9	25	15%	(+)	-
Mo 10	25	15%	35	FA → MEB
Mo 11	25	15%	(+)	-
Mo 12	25	15%	n.c.	-
Mo 13	25	15%	(+)	-
Mo 14	25	15%	(+)	-
Mo 15	25	15%	n.c.	-
Mo 16	25	15%	(+)	-
Mo 17	25	15%	n.c.	-
Mo 18	25	15%	(+)	-
Mo 19	25	15%	n.c.	-
Mo 20	25	15%	n.c.	-
Mo 21	25	15%	(+)	-
Mo 22	25	15%	36	FA → MEB
Mo 23	25	15%	n.c.	-
Mo 24	25	15%	(+)	-
Mo 25	25	15%	n.c.	-
Mo 26	25	15%	(+)	-
Mo 27	25	15%	35	FP → MEB
Mo 28	25	15%	(+)	-
Mo 29	25	15%	36	PERDIDO
Mo 30	25	15%	n.c.	-
Mo 31	25	15%	(+)	-
Mo 32	25	15%	n.c.	-
Mo 33	25	15%	n.c.	-
Mo 34	25	15%	35	SD → MEB
Mo 35	25	15%	36	SI → MEB
Mo 103	25	15%	35	SD → MEB
Mo 104	25	15%	35	SI → MEB
Mo 105	25	15%	(+)	-
Mo 106	25	15%	35	FP → MEB
Mo 107	25	15%	(+)	-
Mo 108	25	15%	35	FP → MEB
Mo 109	25	15%	(+)	-
Mo 110	25	15%	35	MO
Mo 111	25	15%	35	FA → MEB
Mo 112	25	15%	35	MO
Mo 113	25	15%	(+)	-
Mo 114	25	15%	n.c.	-
Mo 115	25	15%	n.c.	-

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 116	25	15%	(+)	-
Mo 117	25	15%	(+)	-
Mo 118	25	15%	n.c.	-
Mo 119	25	15%	(+)	-
Mo 120	25	15%	(+)	-
Mo 128	25	15%	n.c.	-
Mo 129	25	15%	n.c.	-
Mo 130	25	15%	(+)	-
Mo 131	25	15%	(+)	-
Mo 132	25	15%	(+)	-
Mo 133	25	15%	n.c.	-
Mo 149	25	15%	(+)	-
Mo 150	25	15%	(+)	-
Mo 151	25	15%	35	MO
Mo 152	25	15%	35	MO
Mo 153	25	15%	35	MO
Mo 154	25	15%	(+)	-
Mo 155	25	15%	35	FA → MEB

TABLA 14.

**EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
25 HH: ↑ 25%.**

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 67	25	25%	n.c.	-
Mo 68	25	25%	n.c.	-
Mo 69	25	25%	35	FA → MEB
Mo 70	25	25%	n.c.	-
Mo 71	25	25%	35	FA → MEB
Mo 72	25	25%	36	FA → MEB
Mo 73	25	25%	(+)	-
Mo 74	25	25%	(+)	-
Mo 75	25	25%	(+)	-
Mo 76	25	25%	(+)	-
Mo 77	25	25%	35	FA → MEB
Mo 78	25	25%	n.c.	-
Mo 79	25	25%	36	SD → MEB
Mo 80	25	25%	(+)	-
Mo 81	25	25%	36	SI → MEB
Mo 82	25	25%	(+)	-
Mo 83	25	25%	35	FP → MEB
Mo 84	25	25%	36	FP → MEB
Mo 85	25	25%	(+)	-
Mo 127	25	25%	n.c.	-
Mo 156	25	25%	34	SD → MEB
Mo 157	25	25%	(+)	-
Mo 158	25	25%	(+)	-
Mo 159	25	25%	(+)	-
Mo 167	25	25%	(+)	-
Mo 168	25	25%	n.c.	-
Mo 169	25	25%	n.c.	-
Mo 170	25	25%	n.c.	-
Mo 171	25	25%	n.c.	-
Mo 172	25	25%	(+)	-
Mo 173	25	25%	(+)	-
Mo 176	25	25%	(+)	-
Mo 177	25	25%	35	MO
Mo 178	25	25%	35	MO
Mo 179	25	25%	35	F → MEB
Mo 180	25	25%	(+)	-
Mo 181	25	25%	(+)	-
Mo 182	25	25%	n.c.	-
Mo 183	25	25%	n.c.	-
Mo 184	25	25%	35	MO
Mo 185	25	25%	35	MO

TABLA 15.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO

29 HH: ↑ 7%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 121	29	7%	35	FA → MEB
Mo 122	29	7%	35	FA → MEB
Mo 123	29	7%	35	FA → MEB
Mo 124	29	7%	35	FA → MEB
Mo 125	29	7%	35	FP → MEB
Mo 126	29	7%	35	FP → MEB
Mo 134	29	7%	35	SD → MEB
Mo 135	29	7%	35	SD → MEB
Mo 136	29	7%	n.c.	-
Mo 137	29	7%	(+)	-
Mo 138	29	7%	35	SI → MEB
Mo 139	29	7%	35	SI → MEB
Mo 140	29	7%	35	MO
Mo 141	29	7%	35	MO
Mo 142	29	7%	(+)	-
Mo 143	29	7%	35	MO
Mo 144	29	7%	(+)	-
Mo 145	29	7%	(+)	-
Mo 160	29	7%	n.c.	-
Mo 161	29	7%	35	MO
Mo 162	29	7%	35	MO
Mo 163	29	7%	n.c.	-
Mo 164	29	7%	(+)	-
Mo 165	29	7%	35	F → MEB
Mo 166	29	7%	35	F → MEB

TABLA 16.

EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
29 HH: ↑ 15%.

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 146	29	15%	(+)	-
Mo 147	29	15%	(+)	-
Mo 148	29	15%	35	MO
Mo 174	29	15%	35	MO
Mo 175	29	15%	(+)	-
Mo 176	29	15%	(+)	-
Mo 186	29	15%	36	T → MEB
Mo 187	29	15%	35	F → MEB
Mo 188	29	15%	35	F → MEB
Mo 189	29	15%	35	T → MEB
Mo 190	29	15%	35	F → MEB
Mo 191	29	15%	35	F → MEB
Mo 192	29	15%	35	T → MEB
Mo 193	29	15%	35	F → MEB
Mo 194	29	15%	35	F → MEB
Mo 195	29	15%	35	F → MEB
Mo 196	29	15%	35	MO
Mo 197	29	15%	35	MO
Mo 198	29	15%	35	MO
Mo 199	29	15%	(+)	-
Mo 200	29	15%	(+)	-
Mo 201	29	15%	(+)	-
Mo 202	29	15%	35	F → MEB
Mo 203	29	15%	35	F → MEB

TABLA 17.

**EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
29 HH: ↑ 25%.**

NOMBRE	E.O.	↑	E.F.	PROCESADO
Mo 214	29	25%	35	MO
Mo 215	29	25%	35	MO
Mo 216	29	25%	35	MO
Mo 217	29	25%	35	MO
Mo 218	29	25%	(+)	-
Mo 219	29	25%	(+)	-
Mo 233	29	25%	35	F → MEB
Mo 234	29	25%	(+)	-
Mo 235	29	25%	35	F → MEB
Mo 245	29	25%	(+)	-
Mo 246	29	25%	(+)	-
Mo 247	29	25%	(+)	-
Mo 248	29	25%	(+)	-
Mo 251	29	25%	(+)	-
Mo 252	29	25%	n.c.	-
Mo 253	29	25%	n.c.	-
Mo 254	29	25%	(+)	-
Mo 255	29	25%	35	MO
Mo 256	29	25%	(+)	-
Mo 257	29	25%	35	F → MEB
Mo 258	29	25%	35	F → MEB
Mo 259	29	25%	35	T → MEB
Mo 260	29	25%	(+)	-
Mo 261	29	25%	(+)	-
Mo 262	29	25%	35	F → MEB
Mo 263	29	25%	35	F → MEB
Mo 264	29	25%	35	F → MEB

RESULTADOS

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LA DESCRIPCION DE LOS RESULTADOS.

A: arteria aorta.

AD: aurícula derecha.

AI: aurícula izquierda.

AP: aurícula primitiva.

BM: banda moderatriz.

C: *conus cordis*.

ca: cuerno anterior (del siv).

cav: canal auriculoventricular.

cavd: comunicación auriculoventricular derecha.

cavi: comunicación auriculoventricular izquierda.

CD: cojinete dorsal.

CIV: comunicación interventricular.

CV: cojinete ventral.

cp: cuerno posterior (del siv).

ct: cordón trabecular.

DA: *ductus arteriosus*.

e: endocardio.

eem: espacio endomiocárdico.

fp: *foramen primum* (sia).

IA: infundíbulo aórtico.

IP: infundíbulo pulmonar.

m: miocardio.

P: arteria pulmonar.

RD: rodete derecho.

RI: rodete izquierdo.

sia: *septum interatriale*.

siv: *septum interventriculare*.

T: *truncus arteriosus*.

VD: ventrículo derecho.

ve: vellosidades epicárdicas.

VI: ventrículo izquierdo.

vp: valva parietal.

VP: ventrículo primitivo.

vs: valva septal.

zl: zona lisa.

zt: zona trabeculada.

Vamos a describir los resultados obtenidos atendiendo al siguiente orden:

- Controles de MEB.
- Testigos de tirode.
- Testigos de heparina.
- Embriones operados.

No comentaremos nada respecto a los controles de MO, ya que no han sido utilizados en la realización de este trabajo.

Con el fin de no aumentar la confusión existente respecto a la terminología usada en la morfogénesis cardíaca, vamos a definir los términos empleados por nosotros:

- ***Truncus arteriosus***: parte del corazón que va a dar lugar a las arterias aorta y pulmonar, localizada distalmente al "conus cordis", cuyo límite caudal o distal va a estar determinado por la zona de implantación de las válvulas sigmoideas.

- ***Conus cordis (Bulbus cordis)***: parte del corazón que va a dar lugar a los infundíbulos aórtico y pulmonar, así como a la porción trabeculada del ventrículo derecho, localizada entre el "*truncus arteriosus*" distalmente y el "ventrículo primitivo" proximalmente.

- **Ventrículo primitivo**: parte del corazón que va a dar lugar a la porción trabeculada del ventrículo izquierdo, así como a las cámaras ventriculares de entrada derecha e izquierda, localizada entre el "*conus cordis*" distalmente y la "aurícula primitiva" proximalmente.

- **Aurícula primitiva**: parte del corazón que va a dar lugar a las aurícula derecha e izquierda, localizada entre el el ventrículo primitivo distalmente con el que comunica libremente

a través del "canal aurículoventricular" y el "seno venoso" proximalmente.

I . CONTROLES DE MEB .

Vamos a describir la distribución y el desarrollo alcanzado por las distintas porciones del corazón desde el estadio 17 al 35 HH, haciendo hincapié en lo que al proceso de trabeculización y septación ventricular se refiere.

Hemos seleccionado los corazones más representativos de ambos grupos atendiendo a la calidad de la preparación y a la conservación del tejido cardíaco.

E 17 HH (52 - 64 h)

La aurícula primitiva se encuentra situada cefalodorsalmente con respecto al ventrículo primitivo.

El ventrículo primitivo comprendido entre las curvaturas mayor y menor del asa cardíaca, se encuentra situado entre la aurícula primitiva y el *conus cordis* con los que comunica libremente. Ocupa una posición ventrocaudal con respecto a la aurícula primitiva y dorsal con respecto al *conus cordis*.

El *conus cordis* ha adoptado una forma en "bayoneta" y se continúa directamente con el *truncus arteriosus*, el cual ha comenzado su desplazamiento en el plano sagital ocupando una posición anterior con respecto a la aurícula primitiva.

Vamos a considerar al miocardio dividido en dos capas: 1) Capa interna o profunda revestida de endocardio. 2) Capa externa o superficial revestida de epicardio (Hasta el E 25 HH el ventrículo no se recubrirá totalmente de epicardio).

En este estadio se inicia el proceso de trabeculización. La capa profunda del miocardio va a experimentar un crecimiento más rápido que el de la capa superficial, todavía no revestida de epicardio, lo que da lugar al plegamiento de la misma. En el fondo de la porción proximal del *conus cordis* y distal del ventrículo primitivo, a lo largo de la curvatura mayor, como consecuencia de este plegamiento, se forman una serie de crestas y valles dispuestos de manera más o menos equidistante perpendicularmente a la curvatura mayor, teniendo por centro el fondo de la curvatura menor. Estas crestas constituyen las denominadas "trabéculas primitivas sagitales". Van a aparecer de derecha a izquierda.

Esta zona, en la que se inicia el proceso de trabeculización (en el fondo de la porción proximal del *conus cordis* y distal del ventrículo primitivo a lo largo de la curvatura mayor) va a recibir el nombre de "zona trabeculada" frente al de "zona lisa" con el que se denomina al resto de la superficie interna del ventrículo primitivo que permanece sin plegarse (**LAMINA 1: Fotos 1 y 2**).

E 18 HH (3 d)

La aurícula primitiva ha crecido hacia ambos lados, fundamentalmente hacia la derecha acentuándose el surco auriculoconal (LAMINA 2: Fotos 1 y 5).

Empieza a ser evidente el estrechamiento a nivel de la unión aurícula primitiva - ventrículo primitivo (LAMINA 2: Fotos 1 y 3).

El *truncus arteriosus* ha pasado a ocupar su posición definitiva ventral y a la derecha con respecto a la aurícula primitiva (LAMINA 2: Foto 1).

El ventrículo primitivo ha aumentado de tamaño gracias al crecimiento de la capa externa miocárdica (todavía no revestida de epicardio) que permanece lisa, aumentando en superficie, garantizando la expansión ventricular.

Internamente se observa una extensa trabeculización, distribuida más o menos uniformemente por todas partes, cubriendo al ventrículo primitivo hasta la proximidad del canal auriculoventricular (LAMINA 2: Fotos 1, 3 y 4). Las trabéculas sagitales, constituidas por miocardio revestido de endocardio, se disponen en sentido dorsoventral cubriendo el suelo del ventrículo primitivo, así como sus paredes dorsal y ventral. Presentan forma de "cordones" unidos en toda su longitud a la capa externa del miocardio parietal. Por su borde libre son lisos.

Al plegamiento de la capa interna del miocardio parietal, se ha sumado la perforación de la misma dando lugar a la formación de numerosos orificios.

Estas perforaciones van a permitir a la sangre irrigar en

todo su espesor a la pared miocárdica.

En las fotos 3, 4 y 5 de la lámina 2, podemos observar el plegamiento de la capa interna del miocardio parietal que se produce previamente a la invaginación del endocardio.

Durante el proceso de invaginación endocárdica se forman puentes intercelulares que terminarán rompiéndose y reabsorbiéndose (**LAMINA 2: Foto 4**).

Se ha producido también la aparición de las "trabéculas primitivas transversales". Se originan del borde libre de las trabéculas sagitales. Se extienden desde una trabécula sagital a otra pasando a modo de puente por encima de los espacios existentes entre las mismas. Están unidas a la pared miocárdica de forma discontinua. Tienen forma de cordón. Aunque van a ser característicos del ventrículo derecho aparecen también en la porción del ventrículo primitivo que va a dar lugar al ventrículo izquierdo (**LAMINA 2: Fotos 1 y 2**).

E 19 HH (3 - 3½ d)

La aurícula primitiva ha continuado su crecimiento hacia ambos lados, pero sobre todo hacia la derecha. Se pueden observar las "vellosidades epicárdicas" localizadas en la superficie externa del seno venoso, por su lado derecho (**LAMINA 3: Foto 1**).

El estrechamiento a nivel de la unión aurícula primitiva-ventrículo primitivo es más acusado (**LAMINA 3: Fotos 1 y 2**).

En cuanto al proceso de trabeculización, se sigue observando una distribución más o menos uniforme del proceso trabecular tanto en el suelo del ventrículo primitivo como en sus paredes dorsal y ventral, hasta las proximidades del canal aurículoventricular que permanece sin trabecular. Nótese como el proceso de trabeculización asciende más por la pared dorsal que por la pared ventral, lo que determina que sea mayor la zona lisa de la pared ventral que la de la pared dorsal (**LAMINA 3: Fotos 1 y 2**).

E 20 HH (3 - 3½ d)

El *septum interatriale*, que se observa por primera vez entre las 48-58 horas de incubación como un relieve subendocárdico localizado cefalodorsalmente, ha crecido en sentido ventrocaudal adquiriendo forma de media luna de concavidad ventrocaudal, dejando un orificio central, el foramen primum. Divide a la aurícula primitiva en aurícula derecha y aurícula izquierda (LAMINA 4: Foto 1; LAMINA 5: Foto 3).

En el canal aurículoventricular, que hasta ahora había permanecido liso, aparecen los "cojinetes endocárdicos ventral y dorsal" (LAMINA 4: Fotos 1 y 3; LAMINA 5: Fotos 1 y 3). Van a dividir al canal aurículoventricular en orificio aurículoventricular derecho e izquierdo.

El continuo crecimiento tanto de la capa externa como de la capa interna del miocardio parietal determina el que las trabéculas sagitales pasen de tener una forma de "cordón" a tener una forma de "lámina". Así, se observa el interior del ventrículo primitivo recubierto por una serie de "láminas trabeculares", trabéculas sagitales, unidas a la zona más superficial del miocardio parietal, siendo su eje aproximadamente de 90° con respecto al eje del ventrículo primitivo (LAMINA 4: Foto 1; LAMINA 5: Foto 1).

Se observan trabéculas transversales en un número y posición variables tanto en el ventrículo derecho (LAMINA 4: Foto 2), como en el ventrículo izquierdo (LAMINA 4: Foto 4; LAMINA 5: Fotos 3 y 4)

Se aprecian diferencias entre las células endocárdicas de la zona lisa y de la zona trabeculada. Las de la zona lisa

presentan una forma más o menos poligonal siendo más aplanadas, mientras que las de la zona trabeculada son más redondeadas, presentando un núcleo muy marcado (**LAMINA 4: Foto 4**).

La zona lisa de la pared ventral del ventrículo primitivo se encuentra perfectamente separada de la zona trabeculada por una serie de "cordones celulares" o "cordones trabeculares" (**LAMINA 4: Fotos 3 y 4; LAMINA 5: Fotos 3 y 4**). Estos cordones celulares, típicos del proceso de trabeculización, no deben de confundirse con las trabéculas transversales. Los primeros van a terminar desapareciendo, mientras que las segundas van a permanecer tras experimentar una serie de modificaciones durante el proceso de remodelación trabecular.

Ha comenzado el proceso de septación interventricular iniciándose en la pared ventral del ventrículo primitivo. Así, en la foto 4 de la lámina 4, se observa como las trabéculas marcadas con un asterisco han iniciado el "proceso de coalescencia" para formar el *septum interventriculare*. En la foto 3 de la lámina 5 ya se observa el cuerno ventral del *septum interventriculare*.

Si comparamos las fotos 1 y 3 de las láminas 4 y 5, es decir, el fragmento dorsal con el fragmento ventral de un corazón del E 20 HH, nos damos cuenta de que mientras en el fragmento dorsal la distribución de las "láminas trabeculares" sigue siendo más o menos uniforme no pudiendo hablar más que de ventrículo primitivo, en el fragmento ventral, como consecuencia del inicio de la coalescencia de las trabéculas que van a dar lugar a la formación del siv, podemos hablar de un ventrículo izquierdo y de un ventrículo derecho. El ventrículo izquierdo va a comunicar a través del canal aurículoventricular con las aurículas,

mientras que el ventrículo derecho lo hace con el *truncus arteriosus*.

E 21 HH (3½ d)

El *truncus arteriosus* se une íntimamente a la pared ventral de la aurícula derecha completando casi definitivamente su desplazamiento en sentido ventral (LAMINA 6: Fotos 3 y 5). Se observa como el rodete derecho del *truncus arteriosus* se dirige hacia la pared libre del ventrículo derecho (LAMINA 6: Fotos 3 y 5).

Hacen su aparición las "trabéculas secundarias" (LAMINA 6: Foto 2). Son muy numerosas, pequeñas y finas. Van a formar una densa red entre las capas superficial y profunda del miocardio parietal. Surgen como consecuencia del proceso continuado de trabeculización.

Las láminas trabeculares que comenzaron a coalescer en el estadio anterior para dar lugar a la formación del *septum interventriculare*, se han fusionado a nivel de su borde libre, permaneciendo separadas a nivel de su implantación en la pared ventricular (LAMINA 6: Fotos 3, 4 y 5).

El cuerno ventral del *septum interventriculare* se encuentra situado a la derecha de la canal aurículoventricular derecho, al igual que lo estará el cuerno dorsal. Más adelante, irán a buscar el lado izquierdo de la canal aurículoventricular derecho (LAMINA 6: Foto 3).

Todavía no se observa el cuerno dorsal del *septum interventriculare*, aunque sí se ha producido una progresión en sentido ventrodorsal del proceso de coalescencia.

Se observan numerosos cordones trabeculares (LAMINA 6: Fotos 4 y 6).

E 22 HH (3½ - 4 d)

Los cojinetes endocárdicos ventral y dorsal han crecido hacia el plano medio sagital (LAMINA 7: Fotos 1 y 4).

Las láminas trabeculares han aumentado en altura como consecuencia del crecimiento continuado de los ventrículos. Van a presentar por sus dos caras una zona lisa cerca de su borde libre, y una zona trabeculada cerca de su implantación parietal. Este aspecto trabeculado es debido al proceso continuado de invaginación endocárdica y a la formación de las trabéculas secundarias. (LAMINA 7: Fotos 1 y 3).

Ha aumentado el número de trabéculas transversales características del ventrículo derecho (LAMINA 7: Fotos 1 y 3).

Continúa observándose una clara delimitación entre la zona donde se está produciendo el proceso de trabeculización, zona trabeculada, y la zona lisa, marcada por una serie de "cordones celulares" o "cordones trabeculares" (LAMINA 7: Foto 4).

Prosigue el proceso de fusión trabecular a nivel del borde libre de las cuatro o cinco trabéculas sagitales que van a formar el *septum interventriculare* (LAMINA 7: Foto 1).

Sigue sin observarse el cuerno dorsal del *septum interventriculare* (LAMINA 7: Fotos 1 y 3).

E 23 HH (4 d)

Las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare* permanecen fusionadas únicamente por su borde libre, permaneciendo separadas en su anclaje parietal.

El cuerno posterior del *septum interventriculare* todavía no está bien definido. Sin embargo, al observar el fragmento dorsal de un corazón del E 23 HH, ya se puede hablar de ventrículo derecho y ventrículo izquierdo (LAMINA 8: Foto 1).

Como resultado del diferente crecimiento centrífugo experimentado por ambos ventrículos, va a variar la disposición arquitectural de las trabéculas. Mientras que en el ventrículo izquierdo conservan la orientación dorsoventral inicial, en el ventrículo derecho van orientarse de manera semicircular, a modo de "abanico", aproximándose por su borde libre y separándose por su borde parietal (LAMINA 8: Fotos 1 y 3).

Además van a presentar diferencias morfológicas, siendo las trabéculas del ventrículo izquierdo más gruesas por su borde libre y más altas que las del ventrículo derecho.

Se observan numerosas trabéculas transversales en el ventrículo derecho, aunque también se observa alguna en el ventrículo izquierdo. También se aprecian múltiples trabéculas secundarias (LAMINA 8: Fotos 2 y 4).

La zona próxima al canal aurículoventricular, cámara de entrada, permanece sin trabecular (LAMINA 8: Fotos 1 y 3).

E 24 HH (4½ d)

El *septum interatriale* crece progresivamente hacia el canal aurículoventricular adquiriendo forma de media luna de concavidad ventrocaudal cuyos extremos ventral y dorsal se continúan con los cojinetes aurículoventriculares, dejando un orificio central, el foramen primum, que progresivamente disminuye de tamaño como consecuencia del crecimiento de su borde libre. En este estadio, el foramen primum está próximo a su cierre (LAMINA 9: Foto 3).

El cuerno dorsal del *septum interventriculare* se encuentra bien definido (LAMINA 9: Fotos 1 y 2).

Las trabéculas que constituyen el tabique continúan separadas por su borde parietal (LAMINA 9: Fotos 2 y 4).

Ambos ventrículos continúan su crecimiento diferencial. Así, mientras que el ventrículo derecho se expande siguiendo un eje transversal y oblicuo, el ventrículo izquierdo lo hace según un eje longitudinal respecto al *septum interventriculare*, con lo que se acentúan las diferencias arquitecturales entre las trabéculas de ambos ventrículos ya comentadas en el E 23 HH.

Se observan numerosas trabéculas transversales y secundarias en el ventrículo derecho. En el ventrículo izquierdo se siguen observando algunas trabéculas transversales (LAMINA 9: Foto 4).

E 25 HH (4½ - 5 d)

El *truncus arteriosus* se encuentra situado ventralmente, en frente de la pared anterior de la aurícula derecha. Se observan tanto el rodete derecho como el rodete izquierdo. Se va a continuar con el ventrículo derecho sin que exista una demarcación entre ambas estructuras (LAMINA 10: Foto 2; LAMINA 11: Foto 1).

Las aurículas se encuentran situadas dorsalmente. Están separadas por el *septum interatriale*, comunicando a través del foramen primum, que permanece todavía abierto. Comunican con el ventrículo izquierdo a través de la canal aurículoventricular (LAMINA 10: Foto 1).

Los cojines endocárdicos casi contactan entre sí en el plano sagital.

La capa externa del miocardio parietal continúa lisa aumentando en superficie. Se ha producido una separación progresiva entre ambas capas miocárdicas como consecuencia del mayor crecimiento de la capa interna y del consiguiente plegamiento, lo que ha dado lugar a un aumento en el espesor de la pared miocárdica y en la altura de las láminas trabeculares (LAMINA 10: Fotos 1 y 2; LAMINA 11: Foto 1; LAMINA 14: Foto 1).

Siguen aumentando las diferencias en la disposición arquitectural de las trabéculas de ambos ventrículos.

En el ventrículo izquierdo mantienen su disposición dorsoventral. Presentan la forma de láminas altas, engrosadas por su borde libre. Las caras de las láminas son lisas cerca de su borde libre y trabeculadas cerca de su borde parietal. Se observan pocas trabéculas secundarias y ninguna trabécula

transversal (LAMINA 10: Fotos 1 y 2).

En el ventrículo derecho han adoptado una orientación radial. Son más pequeñas y delgadas. Se aprecian numerosas trabéculas secundarias y transversales (LAMINA 10: Fotos 1 y 2).

Los dos ventrículos comunican libremente por encima del *septum interventriculare* a través de la comunicación interventricular. El proceso de coalescencia trabecular progresa en sentido cefalocaudal. Así, las trabéculas que constituyen el *siv* fusionadas por su borde libre comienzan a aproximarse y a fusionarse por sus caras laterales (LAMINA 10: Fotos 1 y 2).

En este momento del desarrollo se está produciendo una continua remodelación del patrón trabecular consistente en: Tras el plegamiento de la capa interna, el endocardio se introduce en el espesor de la gelatina cardíaca contactando con la capa interna miocárdica (LAMINA 12: Fotos 1, 2 y 3). Va a terminar introduciéndose en los amplios espacios intercelulares existentes entre los miocitos. Este proceso continuado de invasión endocárdica va a ir aislando grupos de células miocárdicas, dando lugar a la formación de cordones trabeculares (LAMINA 11: Foto 2), que como ya dijimos constituyen estructuras temporales que terminarán por romperse y desaparecer, remodelándose así el patrón trabecular y delimitando poco a poco las trabéculas definitivas.

En los puntos donde se va a producir la invaginación del endocardio, las células endocárdicas van a adoptar una forma alargada, presentando pequeñas prolongaciones; se orientan hacia el centro de la invaginación en forma de "roseta" (LAMINA 13: Fotos 1, 2 y 3).

Las trabéculas están constituidas por miocardio de

apariencia esponjosa, lo que es debido a la existencia de numerosos espacios intermiocíticos, revestido por una monocapa de células endoteliales, el endocardio, existiendo entre miocardio y endocardio un amplio espacio (LAMINA 14: Fotos 2 y 3).

El *septum interatriale* va a fusionarse por su borde libre con los cojines endocárdicos, que prácticamente se puede decir que están en contacto, cerrándose el foramen primum. Antes de que se produzca la completa fusión entre el *septum primum* y los cojinetes del canal aurículoventricular, aparecen numerosas perforaciones en el *septum interatriale* que permiten el paso de sangre desde la aurícula derecha a la aurícula izquierda dando lugar al foramen secundum.

El ensanchamiento del canal aurículoventricular hacia la derecha y el desplazamiento del *septum interatriale* hacia la izquierda, permite el realineamiento de los cojinetes endocárdicos con el *septum interventriculare*, con lo que el ventrículo derecho adquiere su cámara de entrada. Así, observamos que tanto el cuerno ventral como el cuerno dorsal del *septum interventriculare* se han fijado a la izquierda del orificio aurículoventricular derecho (LAMINA 15: Fotos 3 y 4).

Continúa la expansión de ambos ventrículos, siendo cada vez mayor las diferencias en la disposición de las trabéculas (LAMINA 15: Fotos 1, 2, 3, 4, 5 y 6).

E 27 HH (5 - 5½ d)

Se ha iniciado la fusión de los cojinetes endocárdicos en sentido cefalocaudal (LAMINA 16: Fotos 2 y 3). En la foto 3 de la lámina 16 apreciamos como todavía no ha concluido el proceso de fusión, observándose una ranura entre sus porciones caudales.

Los espacios intertrabeculares existentes entre las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare* son cada vez menores (LAMINA 16: Fotos 1 y 4).

Las láminas trabeculares de ambos ventrículos empiezan a experimentar una relativa disminución respecto al progresivo aumento de volumen intracavitario de ambos ventrículos.

Por otro lado, las láminas trabeculares empiezan a adosarse a la pared libre ventricular (LAMINA 16: Fotos 1 y 4).

E 28 HH (5½ - 6 d)

Aunque la división del *truncus arteriosus* ha progresado internamente de modo considerable, no se observan todavía indicios externos de separación entre las arterias aorta y pulmonar (LAMINA 17: Foto 3).

El *septum interatriale* y el *septum interventriculare* ocupan dos planos sagitales desplazados uno con respecto al otro. El *septum interatriale* va a estar situado a la izquierda con respecto al *septum interventriculare* (LAMINA 17: Foto 1)

La fusión de los cojinetes ventral y dorsal va a dar lugar a la formación del "*septum intermedium*". Su base se va a deformar dando lugar a los "tubérculos laterales derecho" e "izquierdo", que a su vez van a dar lugar a las valvas septales de las comunicaciones aurículoventricular derecha e izquierda (LAMINA 17: Fotos 1 y 3).

Los "cojinetes laterales" aparecen más tardíamente que el los cojinetes ventral y dorsal, en las caras derecha e izquierda de las comunicaciones aurículoventriculares derecha e izquierda. Van a dar lugar a las valvas parietales o laterales de los orificios aurículoventriculares (LAMINA 17: Fotos 1 y 3) .

El miocardio del *septum interventriculare* se observa cada vez más compacto. Al igual que las trabéculas sagitales, el *septum interventriculare* va a presentar sobre sus dos caras una zona lisa, cerca de su borde libre, y una zona trabeculada, cerca de su unión parietal. Estas zonas se encuentran distribuidas desigualmente. Así, si su cara izquierda es en gran parte lisa, su cara derecha lo es trabeculada (LAMINA 17: Fotos 2 y 4)

El proceso progresivo de adhesión de las láminas

trabeculares a la pared libre de ambos ventrículos es más evidente (LAMINA 17: Fotos 2 y 4).

E 29 HH (6 - 6½ d)

El tabique del *truncus* se está alineando con el *septum interventriculare*. Así, el rodete derecho se dirige hacia la pared libre del ventrículo derecho, mientras que el rodete izquierdo lo hace hacia el *septum interventriculare*. Aunque todavía no se ha producido la fusión de los rodetes, ya se puede hablar de infundíbulo aórtico y pulmonar. Así pues, el ventrículo izquierdo ya ha adquirido su cámara de salida (LAMINA 18: Foto 3 y figura 4).

Los cojinetes endocárdicos prácticamente han terminado de fusionarse. Únicamente queda por fusionarse una pequeña porción que determina la existencia de una comunicación infundibuloatrial (LAMINA 18: Foto 5), entre el IA y la AD.

Las comunicaciones aurículoventricular derecha e izquierda se encuentran perfectamente establecidas, con sus valvas parietales y septales respectivas ya formadas (LAMINA 18: Foto 3 y figura 4). Nótese el gran componente muscular que se ancla a la vp de la cavd (LAMINA 18: Foto 3).

Todavía persiste la comunicación interventricular entre ambos ventrículos.

E 30 HH (6½ - 7 d)

Siguen sin observarse indicios externos de la separación entre las arterias aorta y pulmonar (LAMINA 19: Fotos 4 y 5). Sin embargo, la tabicación del *truncus arteriosus* prácticamente ha finalizado, observándose únicamente una pequeña comunicación interinfundibular (LAMINA 19: Foto 6).

Persiste la comunicación interventricular. Va a estar situada más a la derecha, entre el *septum interventriculare*, el tubérculo derecho y el tabique del *truncus*. La comunicación interventricular se terminará cerrando por una expansión del tubérculo derecho (LAMINA 19: Fotos 1, 2, 5 y 6).

En su desplazamiento hacia la izquierda, el *septum interventriculare* se desplaza más periférica que centralmente debido a que la porción central del *septum interventriculare* es contenida a la derecha por el anclaje en su pared de las trabéculas transversales del ventrículo derecho. En un corte transversal se observa como el ventrículo derecho en forma de "croissant", abraza al ventrículo izquierdo que presenta una forma "redondeada" (LAMINA 19: Foto 1).

Continúa el proceso de remodelación trabecular: el endocardio se invagina en el espesor de la gelatina cardíaca, contacta con los miocitos introduciéndose entre los espacios intercelulares existentes entre los mismos, aislando grupos de miocitos, dando lugar a los cordones trabeculares y delimitando poco a poco las trabéculas definitivas (LAMINA 20: Fotos 2 y 3).

E 31 HH (7 - 7½ d)

Comienza a observarse externamente la separación entre las arterias aorta y pulmonar (LAMINA 22: Fotos 2 y 3).

Persiste todavía una pequeña comunicación interinfundibular y una comunicación interventricular (LAMINA 22: Figura 5).

El espacio comprendido entre los tubérculos derecho e izquierdo del *septum intermedium* va a dar lugar a la pared posterior del infundíbulo aórtico. La pared posterior del IA va a experimentar un proceso de remodelación (LAMINA 21: Fotos 3 y 4).

Nótese el gran anclaje muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho continuándose con el miocardio parietal del VD (LAMINA 22: Foto 4).

El miocardio del *septum interventriculare* se observa compacto, aunque todavía no ha finalizado su crecimiento. Se han incrementado las diferencias entre las caras derecha e izquierda del *septum interventriculare*. Mientras que la cara izquierda es en gran parte lisa, la derecha lo es trabeculada

E 32 HH (7½ d)

La comunicación interventricular limitada por el *septum interventriculare*, *septum* del *conus* y tubérculo derecho, se va a cerrar por una expansión del tubérculo derecho. Va a constituir la "*pars membranacea*" del *septum interventriculare* que en el ave está descrita como muscular a diferencia del mamífero. Nosotros no lo hemos observado en estos estadíos.

Se produce también el cierre de la comunicación interinfundibular por la fusión de los rodetes.

Nótese la presencia de numerosas perforaciones, foramen secundum, en la práctica totalidad del *septum interatriale*, tanto en la porción ventral como en la dorsal (LAMINA 23: Fotos 2 y 3).

Se aprecia perfectamente los diferentes planos sagitales ocupados por los *septum interatriale* e *interventriculare*, estando el primero desplazado a la izquierda con respecto al segundo (LAMINA 23: Fotos 1, 2, 3, 4, 5 y 6).

E 33 HH (7½ - 8 d)

En un corte transversal se observa perfectamente como el ventrículo derecho, en forma de "croissant", abraza al ventrículo izquierdo, de forma "circular" (LAMINA 24: Fotos 1, 2 y 3).

El proceso de remodelación de la pared posterior del infundíbulo aórtico prácticamente ha finalizado (LAMINA 24: Fotos 6 y 7).

E 34 HH (8 d)

El proceso de morfogénesis cardíaca, así como los principales acontecimientos del proceso de trabeculización, están próximos al estadio de corazón maduro correspondiente al E 35 HH ($8\frac{1}{2}$ - 9 d) (LAMINA 25: Fotos 1, 2, 3 y 4).

E 35 HH (8½ - 9 d)

Hemos obtenido una serie de macrofotografías de la morfología externa del embrión McI 35 correspondiente al E 35 HH, con el fin de poder compararlas con las obtenidas de los embriones de los grupos "testigos de tirode", "testigos de heparina" y "embriones operados", que presentaban malformaciones morfológicas externas (LAMINA 26: Fotos 1, 2, 3 y 4). Los aspectos en los que hay que fijarse fundamentalmente son: desarrollo alcanzado por las vesículas telencefálicas, número de papilas esclerales (13 ó 14), membrana nictitante (se encuentra próxima a las papilas esclerales), circunferencia elipsoidal delimitada por los párpados, alargamiento del pico, extremidades, línea media ventral toracoabdominal y cola.

A partir de este estadio se puede considerar al corazón embrionario de ave como "corazón maduro". Salvo por un aumento en el tamaño, que depende del normal crecimiento, no se va a observar ningún otro cambio en su aspecto externo ni en los grandes vasos.

Externamente va a presentar un aspecto similar al del corazón adulto. Las cavidades aparecen claramente delimitadas. Los grandes vasos, aorta y pulmonar, así como sus ramas, están bien definidos.

Las valvas de ambos orificios auriculoventriculares difieren entre sí. Mientras que las del orificio auriculoventricular izquierdo se desprenden de la pared libre del ventrículo izquierdo (valva parietal) y del *septum* (valva septal) quedando suspendidas libremente en el interior del ventrículo izquierdo, las del orificio auriculoventricular derecho quedan adheridas

íntimamente al miocardio septal (valva septal) y parietal (valva parietal) del ventrículo derecho (LAMINA 27: Foto 1, 2, 3 y 4; LAMINA 28: Fotos 1, 2 y 3).

El grosor de las paredes cardíacas no es uniforme. Es mayor en los ventrículos que en las aurículas, y mayor en el ventrículo izquierdo que en el ventrículo derecho.

La morfología de ambos ventrículos es diferente. En un corte frontal se aprecia como el eje mayor del ventrículo derecho es transversal, mientras que el del ventrículo izquierdo es longitudinal respecto al *septum interventriculare*. En un corte transversal, como ya observamos en estadios anteriores, el ventrículo derecho va a abrazar al ventrículo izquierdo.

Se ha completado el proceso de coalescencia de las trabéculas responsables de la formación del *septum interventriculare*. Apenas se observan espacios en el espesor del tabique que presenta un aspecto compacto. Se aprecian diferencias entre la cara izquierda y derecha del *septum interventriculare*. Mientras que la cara izquierda es lisa en su práctica totalidad, la cara derecha es trabeculada en su mitad inferior (Fotos de las LAMINAS 27 y 28).

En esta fase del desarrollo el proceso de trabeculización ventricular se encuentra próximo a su fin.

Las láminas ventriculares de ambos ventrículos han experimentado una disminución relativa en altura con respecto al aumento de volumen de ambos ventrículos. La mayoría de las láminas trabeculares se han ido adosando por un proceso de compactación a las paredes libres ventriculares, con lo que la mayoría de las trabéculas son incorporadas al interior de la pared ventricular.

El endocardio es similar en toda su extensión no observándose invaginaciones.

Todavía se observan algunos cordones trabeculares, rotos y a punto de romperse (LAMINA 29: Foto 1).

El espacio endomiocárdico es mínimo comparado con el que presentaban las trabéculas en fase de remodelación (LAMINA 29: Fotos 2 y 3).

El miocardio, de presentar un aspecto esponjoso como consecuencia de la presencia de amplios espacios intermiocíticos, ha pasado a tener un aspecto compacto por la desaparición de los mismos 2 (LAMINA 29: Foto 3).

El patrón trabecular del ventrículo izquierdo parece ser más regular que el del ventrículo derecho. Presenta unas trabéculas gruesas, redondeadas, entre las que se intercalan algunas trabéculas más delgadas, existiendo espacios intertrabeculares entre las mismas. Se van a disponer más o menos longitudinalmente siguiendo el eje mayor del ventrículo izquierdo. Van a tener por centro la cámara de salida del mismo o infundíbulo aórtico (LAMINA 28: Foto 3).

En el ventrículo derecho las trabéculas son más delgadas, observándose una fina red de cordones trabeculares en su superficie. Las trabéculas se van a disponer siguiendo un semicírculo, coincidiendo sus extremos con el anclaje ventral y dorsal del *septum interventriculare* (LAMINA 28: Foto 2).

LAMINA 1.

Foto 1. — Embrión McII 1 (E 17 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, , visión ventral.

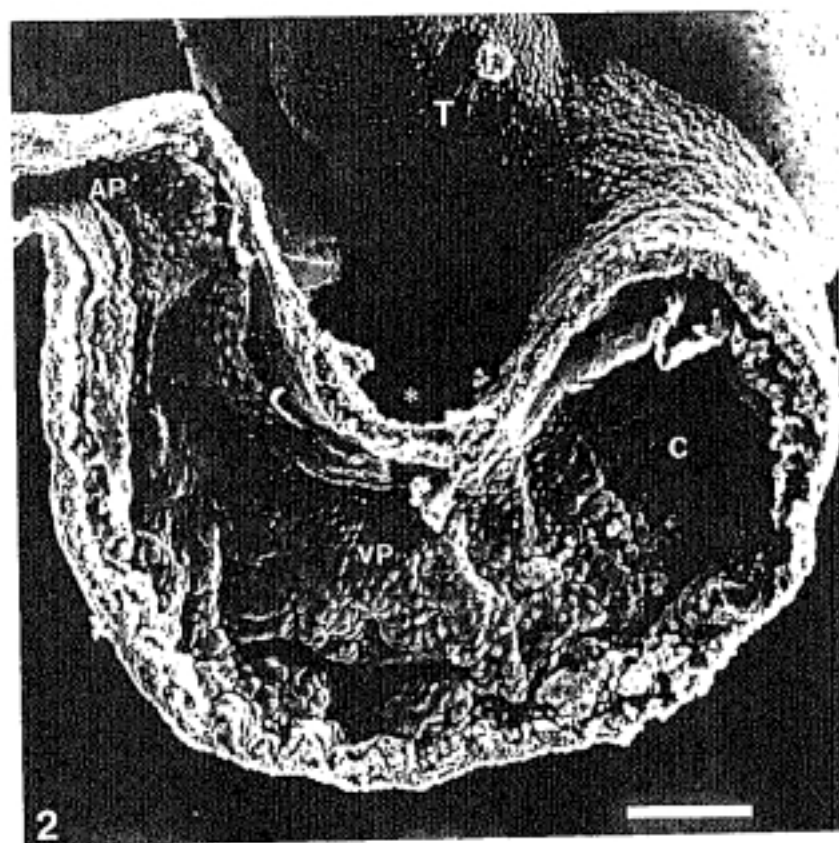
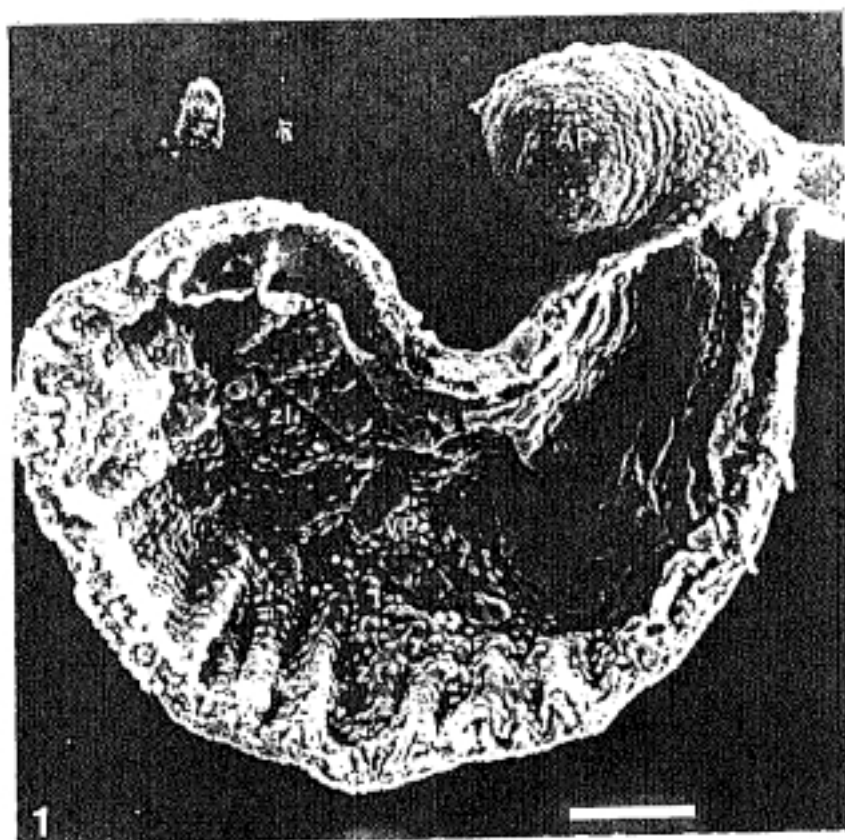
AP: aurícula primitiva; VP: ventrículo primitivo; zl: zona lisa;
zt: zona trabeculada.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Embrión McII 1 (E 17 HH) cortado frontal, fragmento ventral, visión dorsal. Surco auriculoconal (Asterisco).

AP: aurícula primitiva; C: *conus cordis*; T: *truncus arteriosus*;
VP: ventrículo primitivo.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 2 .

Foto 1 . — Embrión McII 6 (E 18 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal. Surco auriculoconal (Asterisco).

AP: aurícula primitiva; C: *conus cordis*; cav: canal auriculoventricular; T: *truncus arteriosus*; VP: ventrículo primitivo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la foto 1. Nótese la presencia de una trabécula transversal en el prospectivo VI (Flecha).

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Embrión McII 7 (E 18 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AP: aurícula primitiva; VP: ventrículo primitivo.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Detalle de la foto 3. VP a mayor aumento. Puentes intercelulares (Puntas de flecha).

cav: canal auriculoventricular; e: endocardio; m: miocardio; VP: ventrículo primitivo.

Barra: 100 μ m.

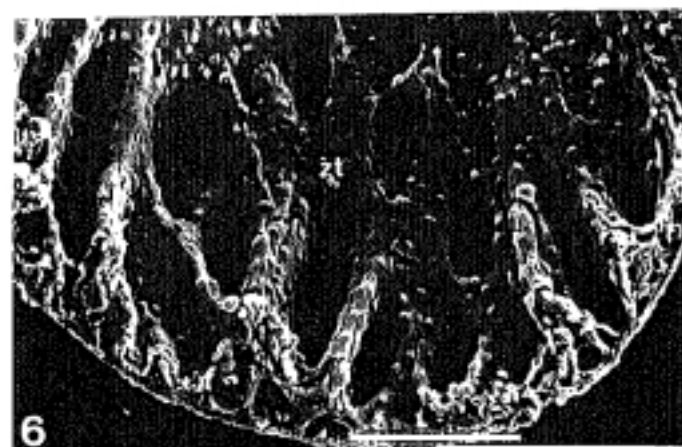
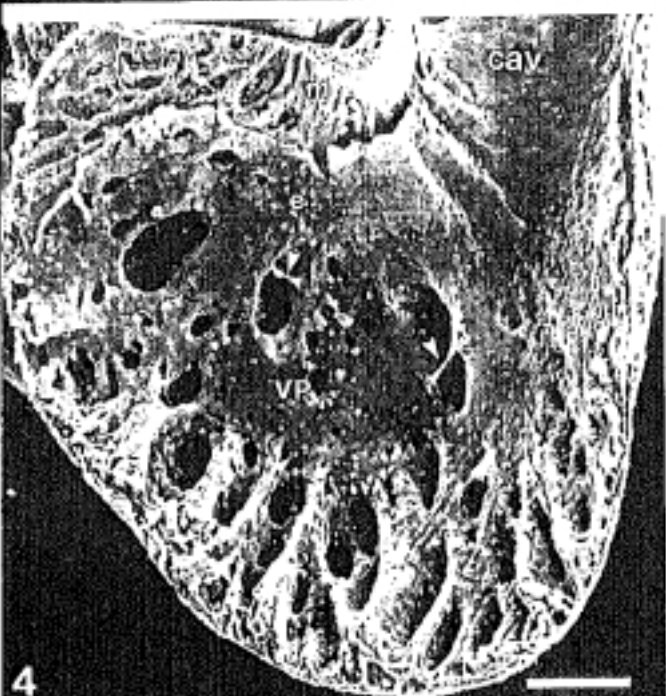
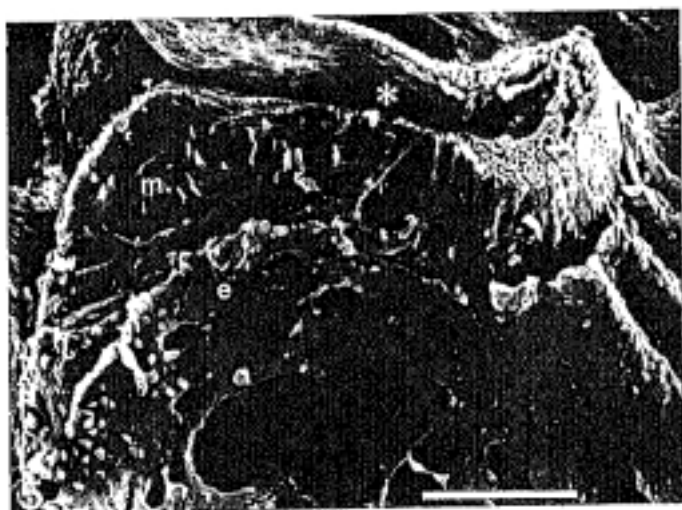
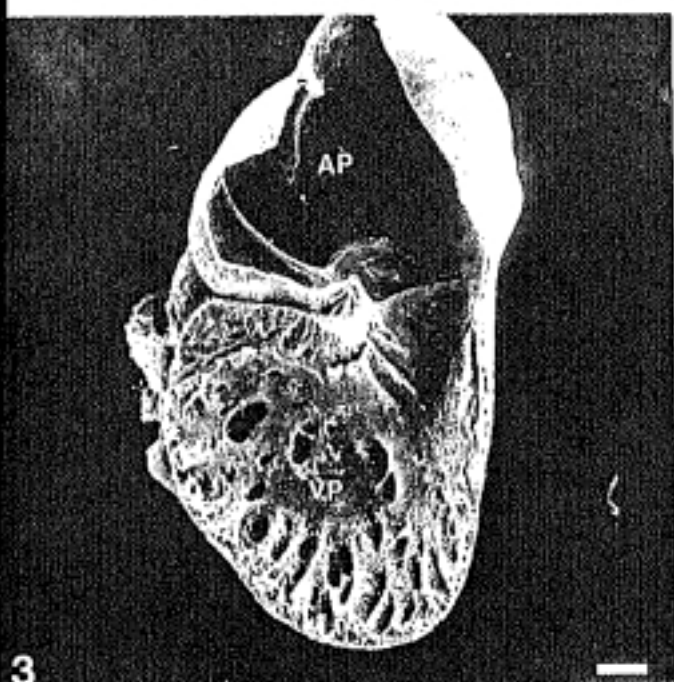
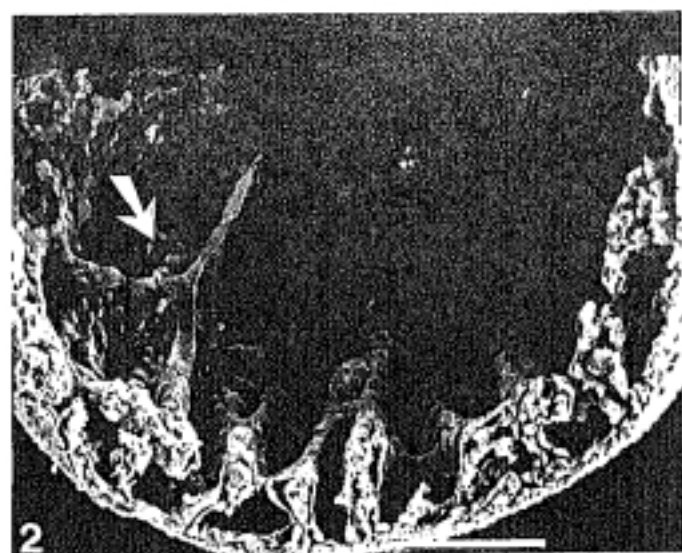
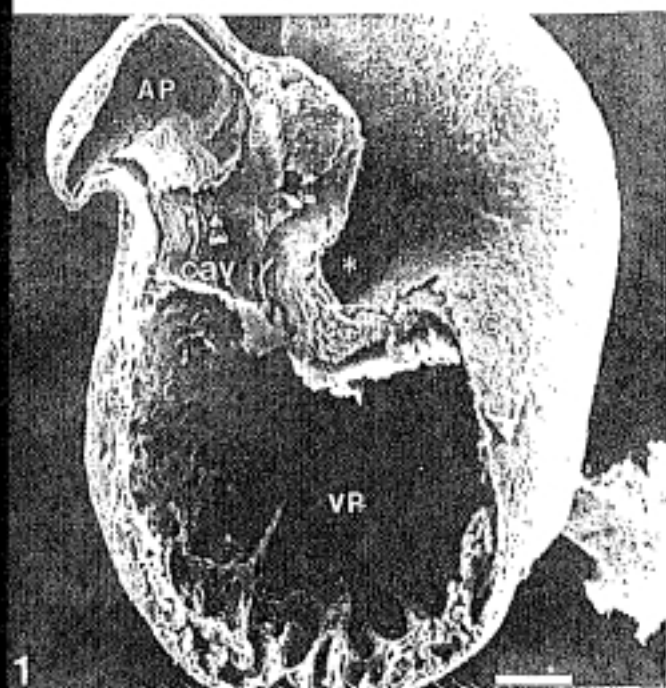
Foto 5 . — Detalle de las fotos 3 y 4. Nótese como el miocardio se remodela antes de que el endocardio comience a invaginarse. Surco auriculoconal (Asterisco).

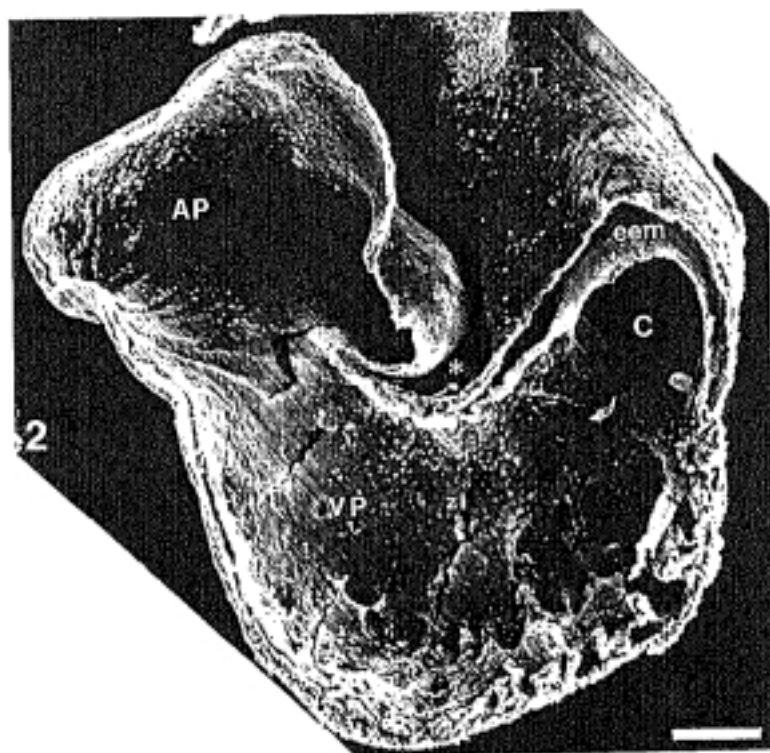
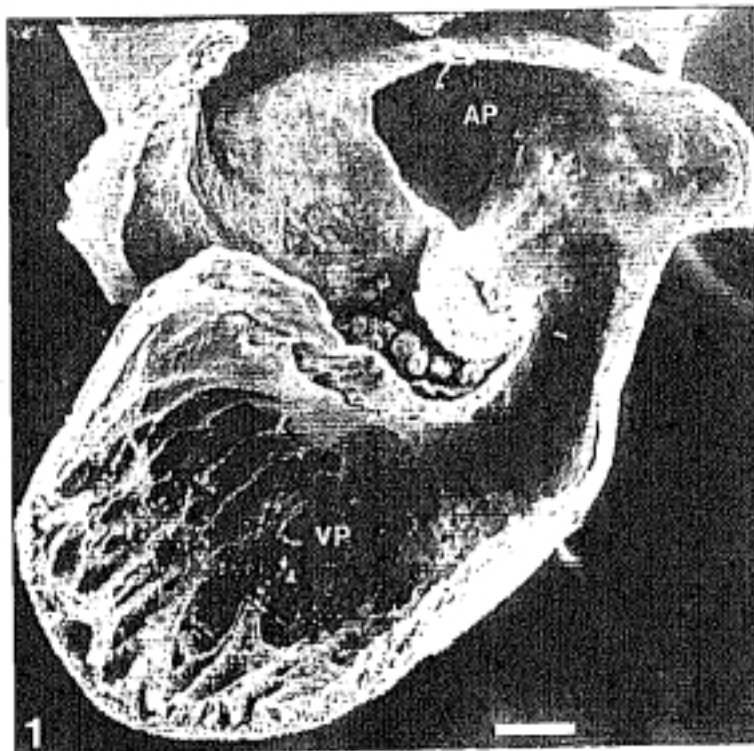
e: endocardio; m: miocardio.

Barra: 100 μ m.

Foto 6 . — Detalle de las fotos 3 y 4. Zona trabeculada (zt) del VP a mayor aumento.

Barra: 100 μ m.





LAMINA 3 .

Foto 1. — Embrión McII 12 (E 19 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Vello­sidades epicárdicas (Asterisco).

AP: aurícula primitiva; VP: ventrículo primitivo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Embrión McII 12 (E 19 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal. Surco auriculoconal (Asterisco).

AP: aurícula primitiva; C: *conus cordis*; eem: espacio endomiocárdico; T: *truncus arteriosus*; VP: ventrículo primitivo; zl: zona lisa.

Barra: 100 μ m.

LAMINA 4 .

Foto 1 . — Embrión McII 16 (E 20 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda; CD: cojinete dorsal; sia: *septum interatriale*.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la foto 1. Trabéculas transversales en el VD (Puntas de flecha).

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Embrión McII 16 (E 20 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

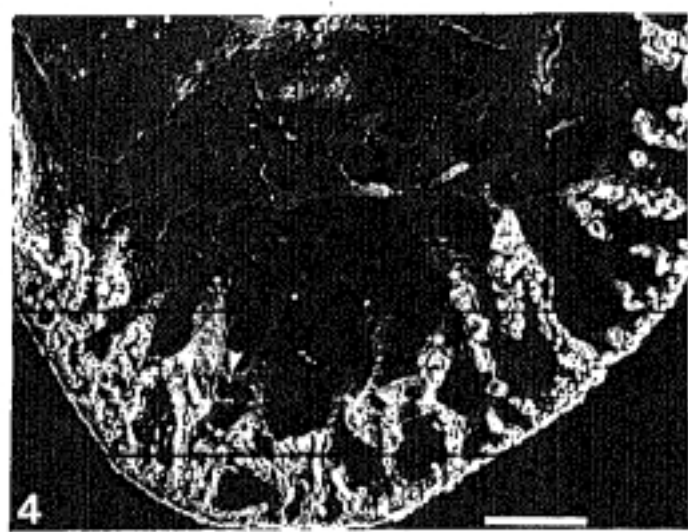
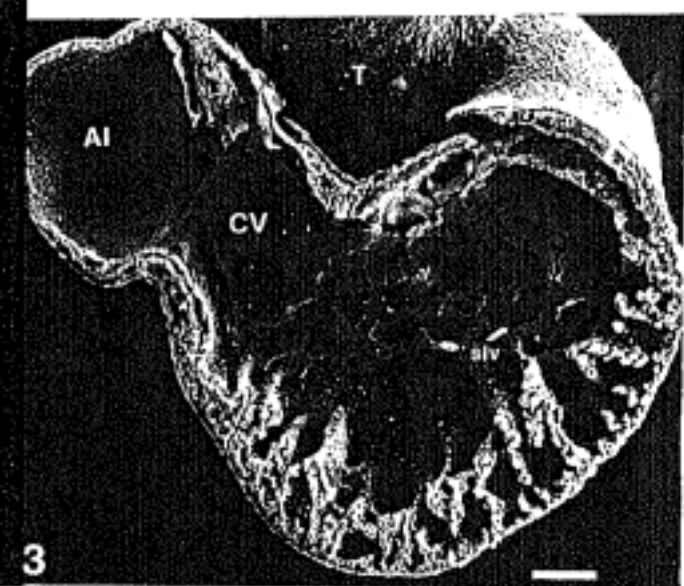
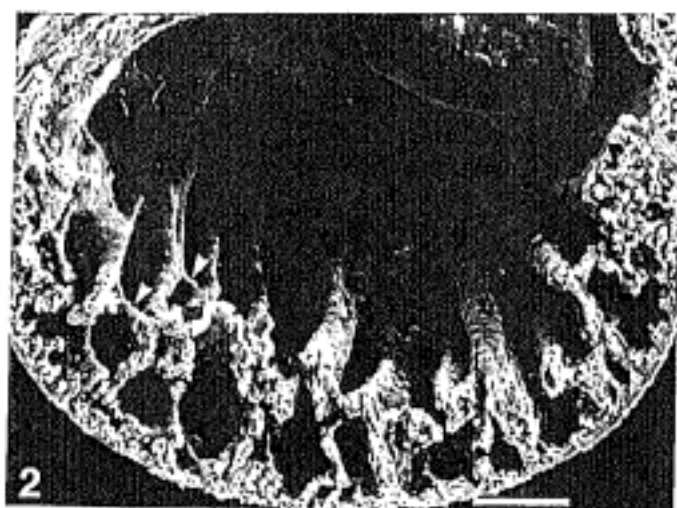
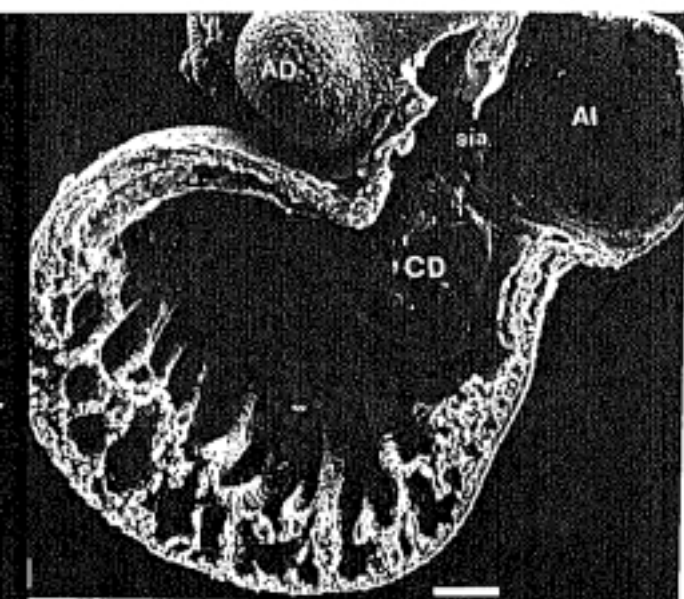
AI: aurícula izquierda; CV: cojinete ventral; siv: *septum interventriculare*; T: *truncus arteriosus*.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Detalle de la foto 3. Nótese como las trabéculas marcadas con un asterisco empiezan a coalescer para formar el primitivo *septum interventriculare*. Trabécula transversal en el ventrículo izquierdo (Punta de flecha).

zl: zona lisa.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 5 .

Foto 1 . — Embrión McII 20 (E 20 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

CD: cojinete dorsal; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la foto 1. Coalescencia de las trabéculas que van a dar lugar al primitivo *septum interventriculare* (Flecha).

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Embrión McII 20 (E 20 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

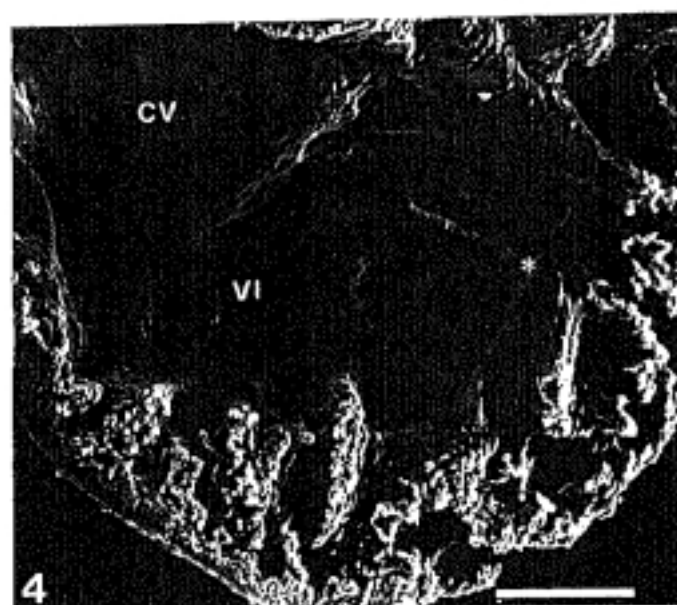
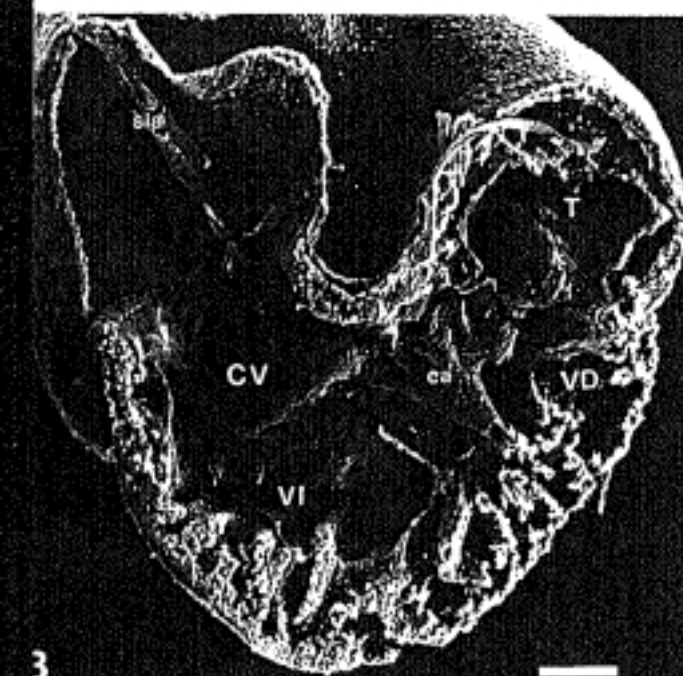
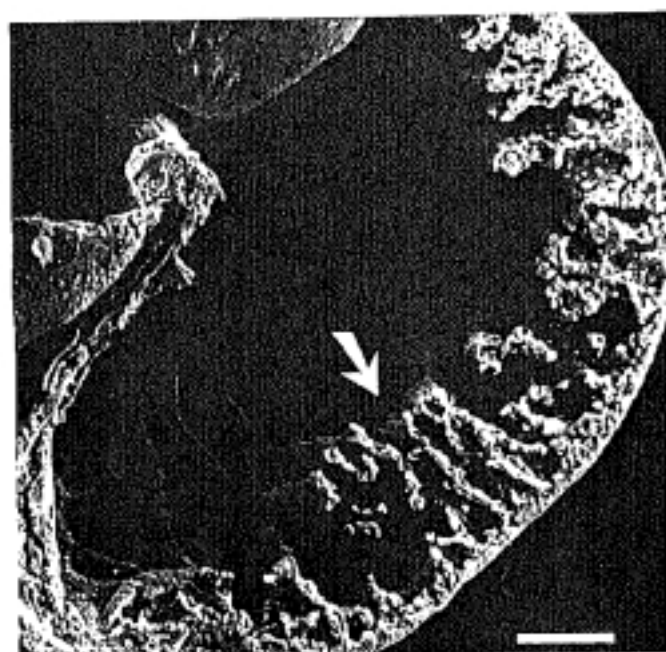
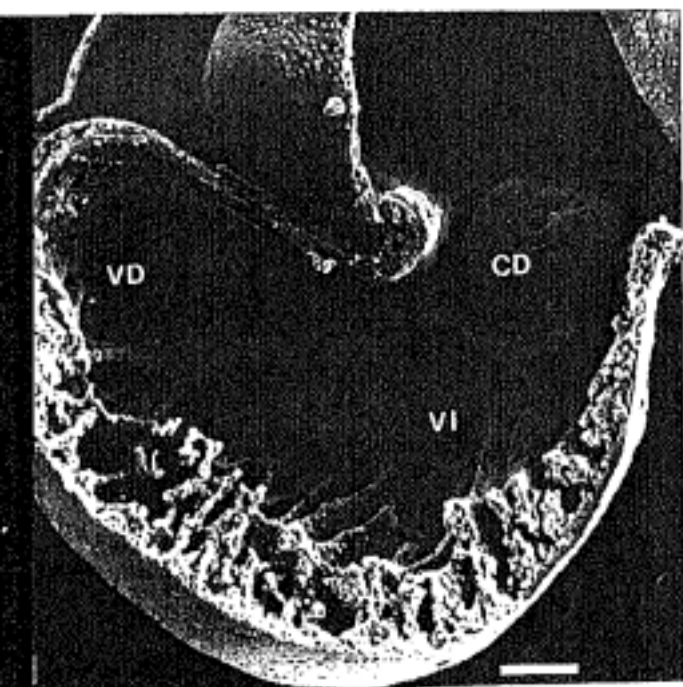
CV: cojinete ventral; *sia*: *septum interatriale*; *ca*: cuerno anterior del *septum interventriculare*; T: *truncus arteriosus*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Detalle de la foto 3. Nótese como la trabécula transversal señalada por el asterisco se encuentra en el futuro VI.

CV: cojinete ventral; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 6 .

Foto 1 . — Embrión McII 22 (E 21 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; CD: cojinete dorsal; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la foto 1. Fusión de las láminas trabeculares por su borde libre (Asteriscos). Trabécula transversal en el VD (Flecha). Trabéculas secundarias (Puntas flecha).

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Embrión McII 22 (E 21 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

ca: cuerno anterior del *septum interventriculare*; CV: cojinete ventral; RD: rodete derecho; siv: *septum interventriculare*; T: *truncus arteriosus*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Detalle de la foto 3. Cordones celulares o trabeculares en el VI (Puntas de flecha).

BM: banda moderatriz.

Barra: 100 μ m.

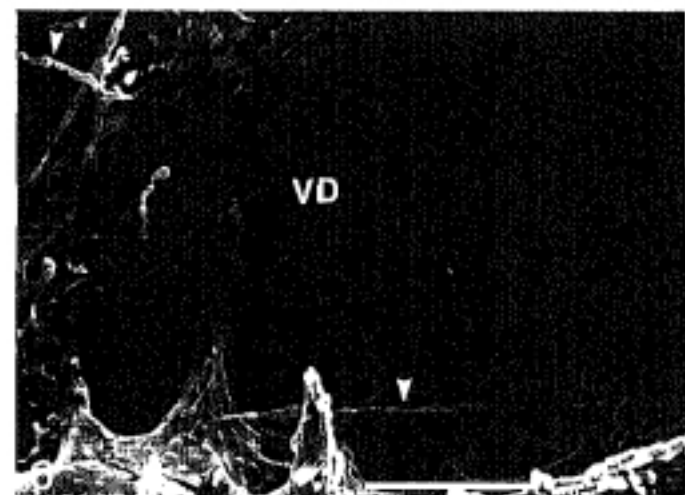
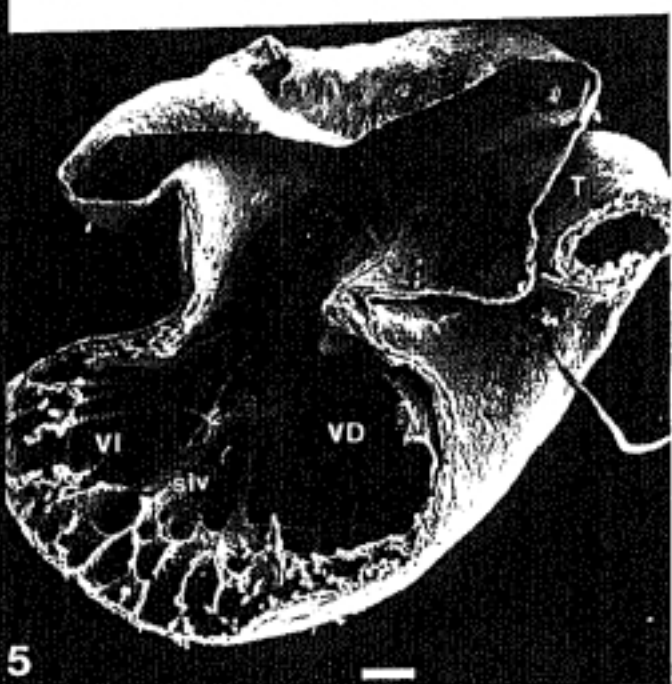
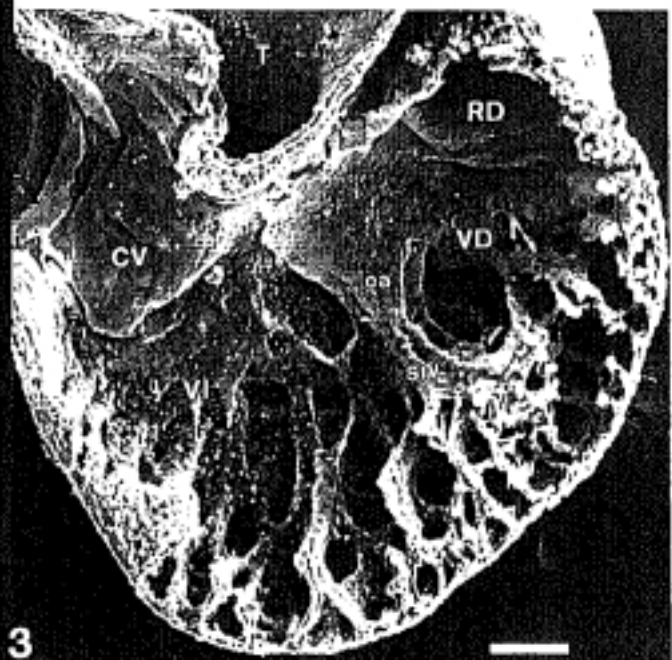
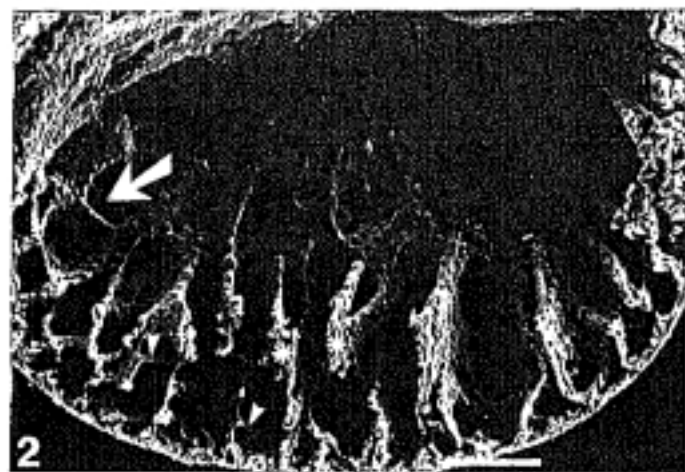
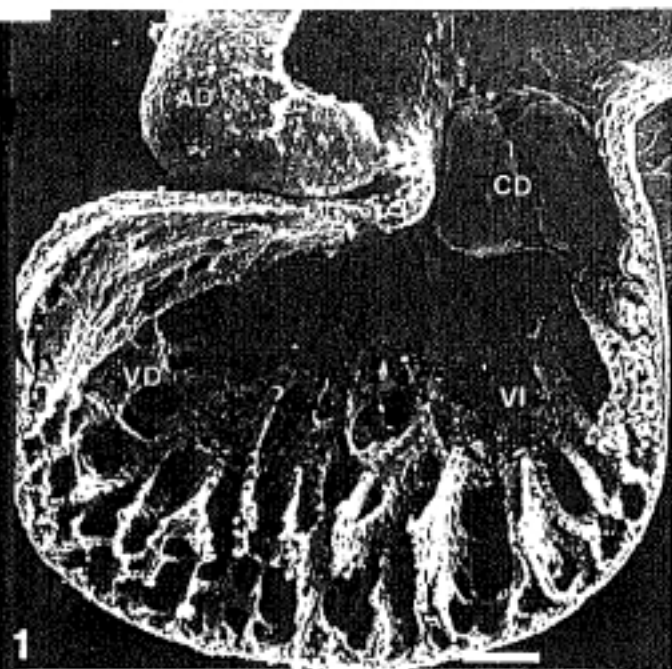
Foto 5 . — Embrión McII 23 (E 21 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

siv: *septum interventriculare*; T: *truncus arteriosus*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 6 . — Detalle de la foto 5. Cordones celulares o trabeculares en el VD (Puntas de flecha).

Barra: 100 μ m.



LAMINA 7 .

Foto 1 . — Embrión McII 27 (E 22 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Trabéculas transversales (Punta de flecha).

CD: cojinete dorsal; siv: *septum interventriculare*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 µm.

Foto 2 . — Embrión McII 27 (E 22 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

CV: cojinete ventral; siv: *septum interventriculare*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 µm.

Foto 3 . — Embrión McII 29 (E 22 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Trabéculas transversales (Puntas de flecha).

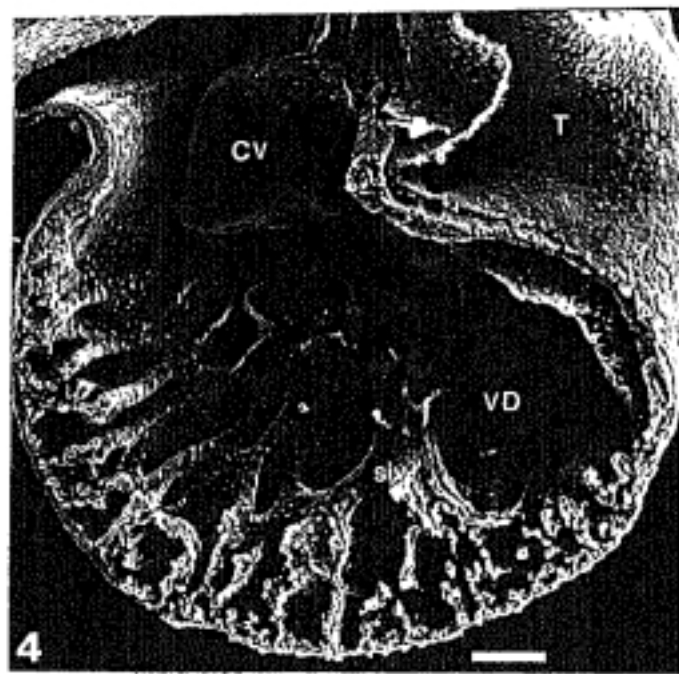
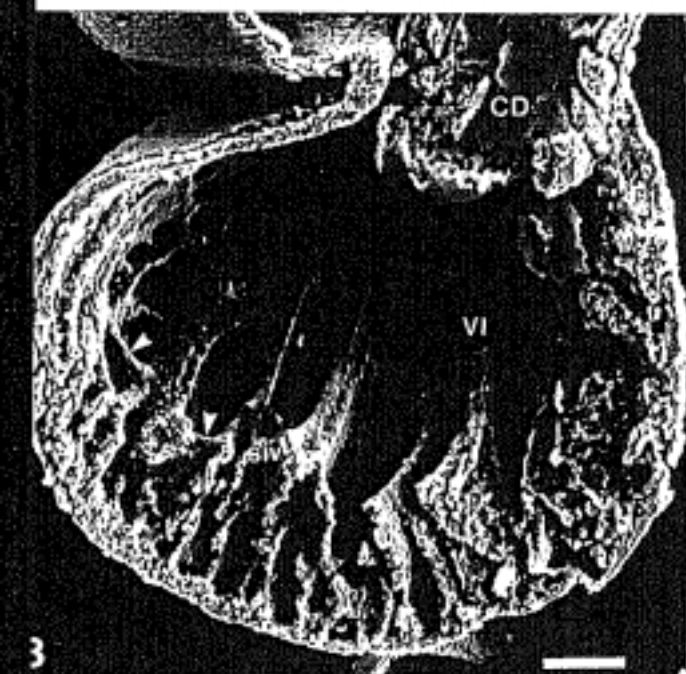
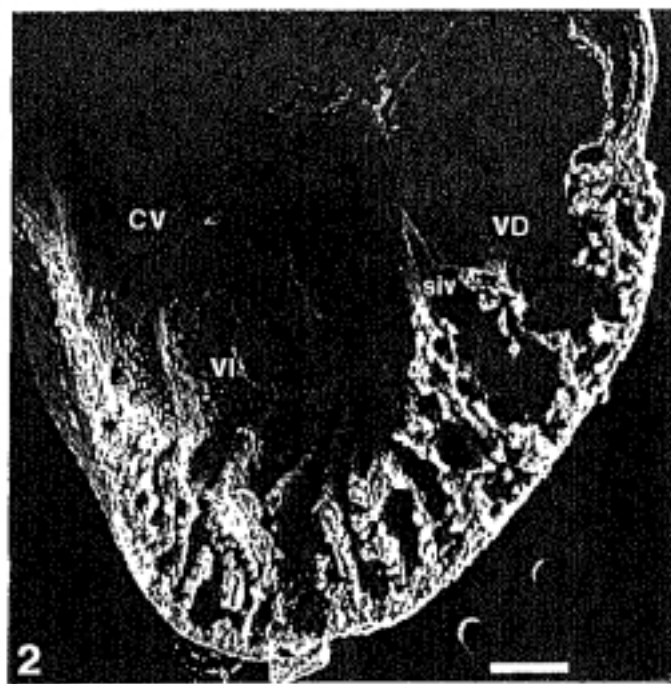
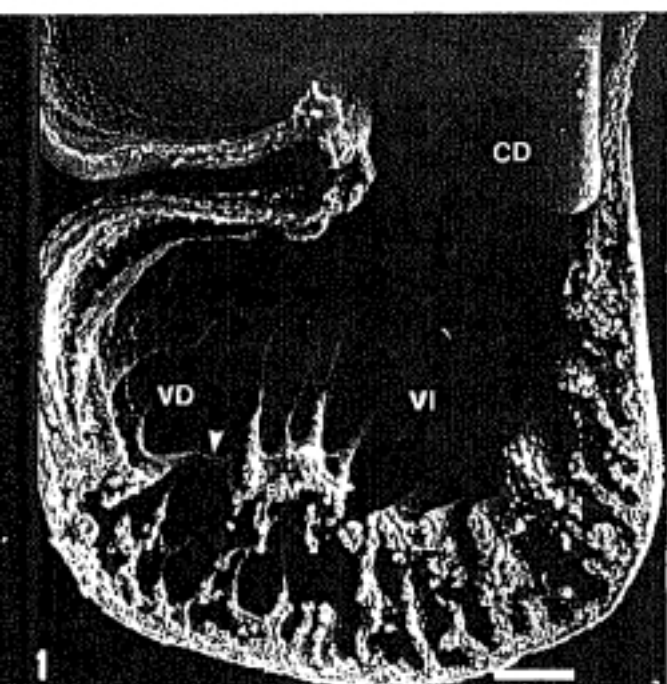
CD: cojinete dorsal; siv: *septum interventriculare*; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 µm.

Foto 4 . — Embrión McII 29 (E 22 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

CV: cojinete ventral; siv: *septum interventriculare*; T: *truncus arteriosus*; VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 µm.



LAMINA 8.

Foto 1. — Embrión McII 33 (E 23 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

CD: cojinete dorsal; cp: esbozo del cuerno posterior del *septum interventriculare*; siv: *septum interventriculare*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Detalle de la foto 1 a mayor aumento. Trabéculas secundarias (Puntas de flecha).

siv: *septum interventriculare*; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Embrión McII 33 (E 23 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

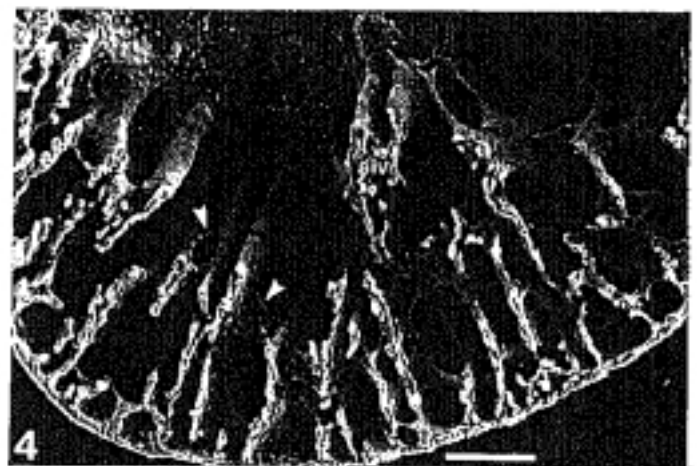
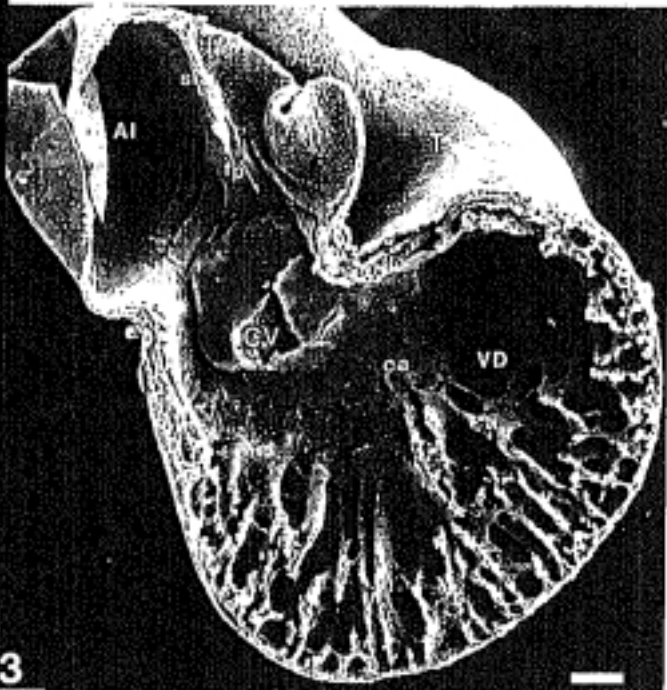
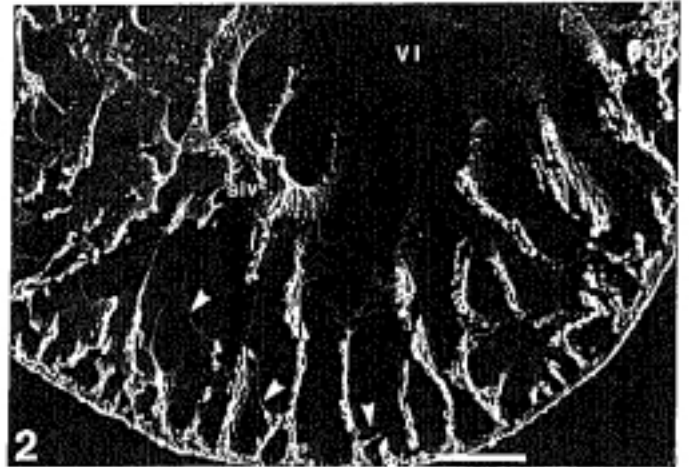
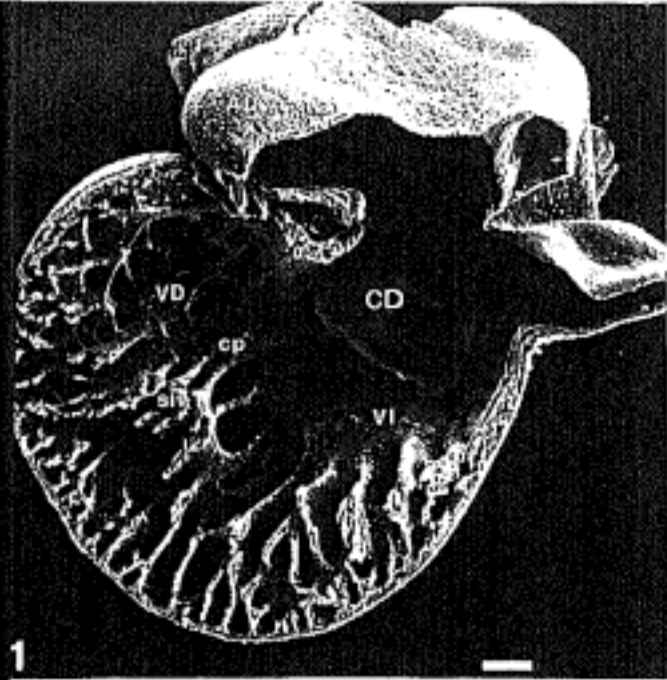
AI: aurícula izquierda; ca: cuerno anterior del *septum interventriculare*; CV: cojinete ventral; fp: *foramen primum*; sia: *septum interatriale*; T: *truncus arteriosus*; VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.

Foto 4. — Detalle de la foto 4 a mayor aumento. Trabéculas transversales en el VI (Puntas de flecha).

siv: *septum interventriculare*.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 9 .

Foto 1 . — Embrión McII 38 (E 24 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda; CD: cojinete dorsal.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la foto 1 . Visión de ambos ventrículos a mayor aumento.

cp: cuerno posterior del *septum interventriculare*; siv: *septum interventriculare*; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Embrión McII 38 (E 24 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

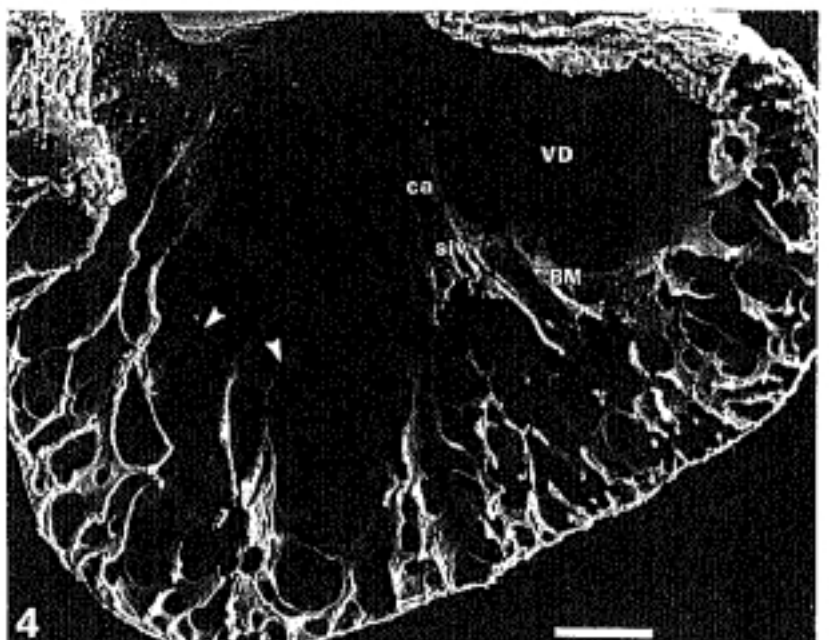
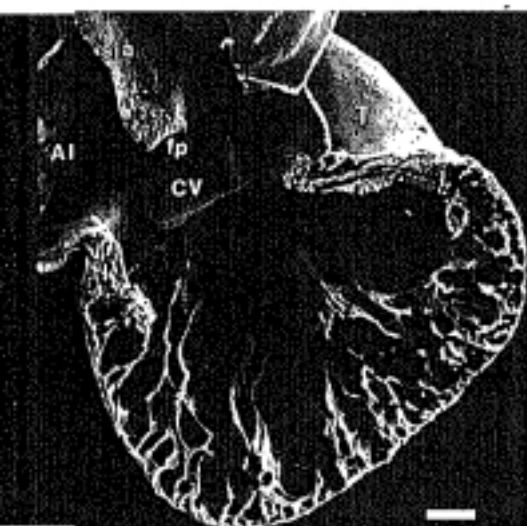
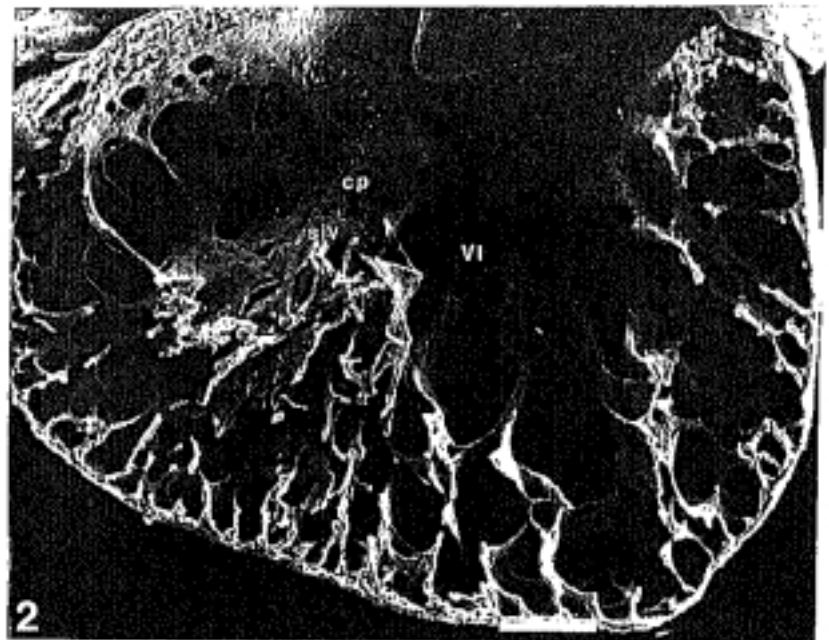
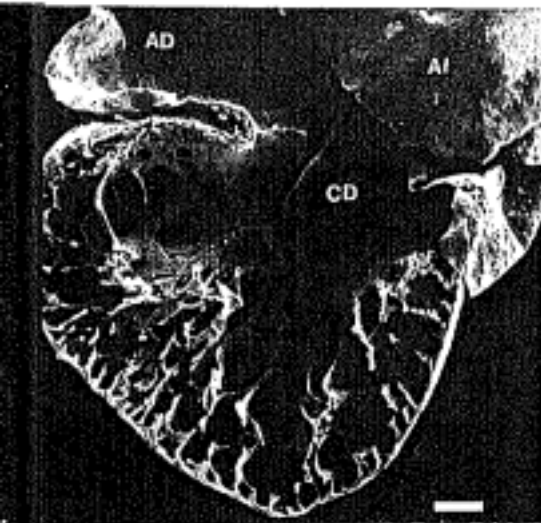
AI: aurícula izquierda; CV: cojinete ventral; fp: *foramen primum*; sia: *septum interatriale*; T: *truncus arteriosus*.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Detalle de la foto 3. Visión de ambos ventrículos a mayor aumento. Trabéculas transversales en el ventrículo izquierdo (Puntas de flecha).

ca: cuerno anterior del *septum interventriculare*; siv: *septum interventriculare*; VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 10.

Foto 1. — Embrión McII 43 (E 25 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Comunicación interventricular (Flecha).

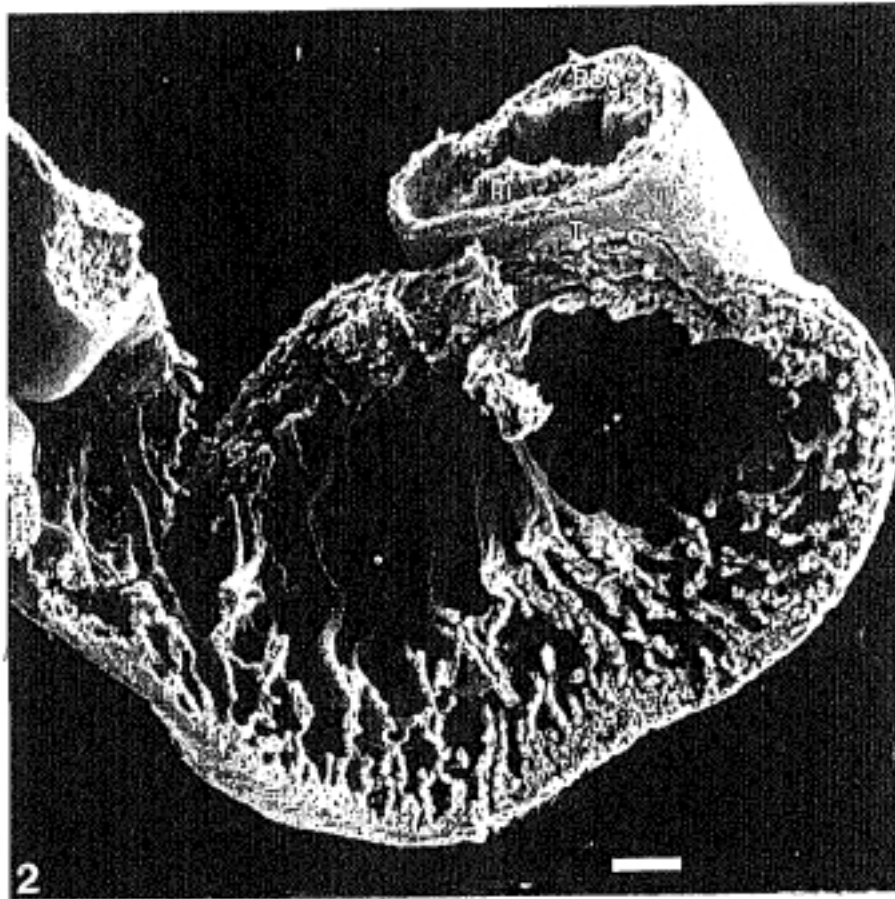
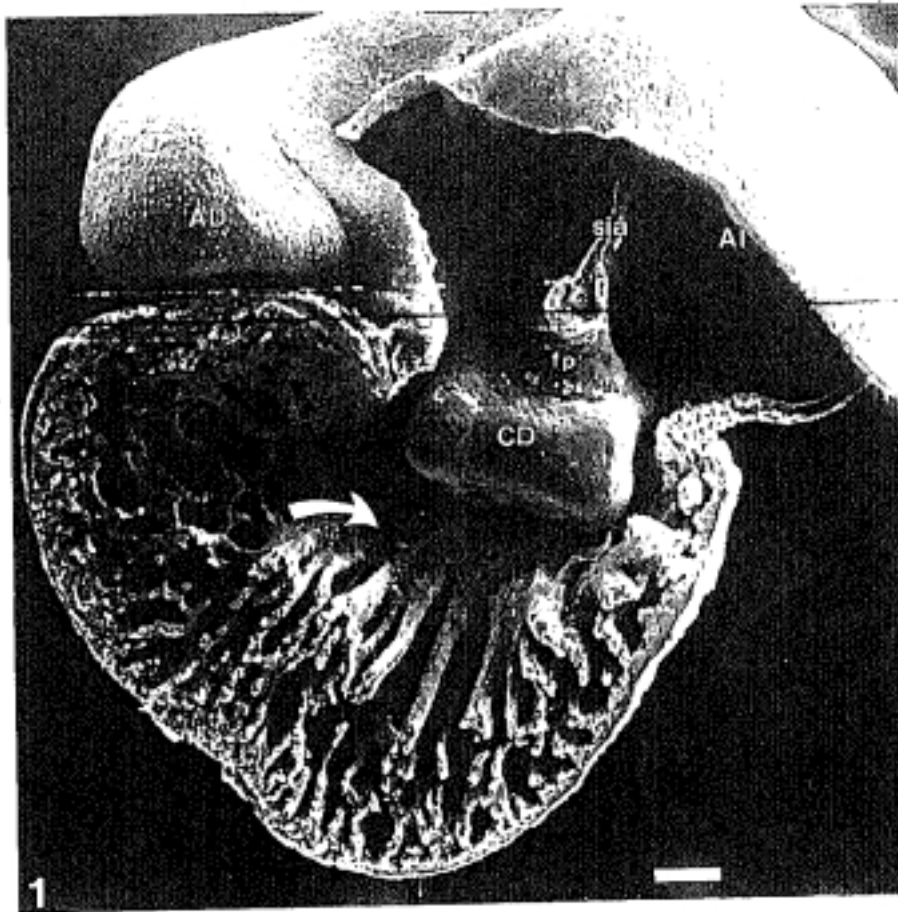
AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda; CD: cojinete dorsal; fp: *foramen primum*; sia: *septum interatriale*.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Embrión McII 43 (E 25 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

RD: rodete derecho; RI: rodete izquierdo; T: *truncus arteriosus*.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 11.

Foto 1. — Embrión McI 90 (E 25 HH) cortado parasagitalmente por su lado derecho, fragmento izquierdo, visión lateral derecha.

RD: rodete derecho; RI: rodete izquierdo; T: *truncus arteriosus*;
VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1.
zl: zona lisa; zt: zona trabeculada.

Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Detalle de la zona enmarcada en pequeño de la foto 2. Cordón trabecular a punto de romperse.

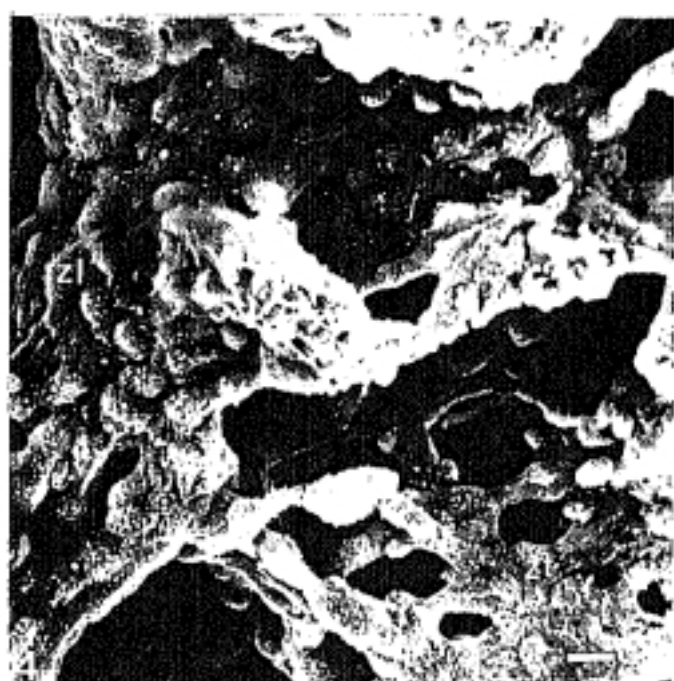
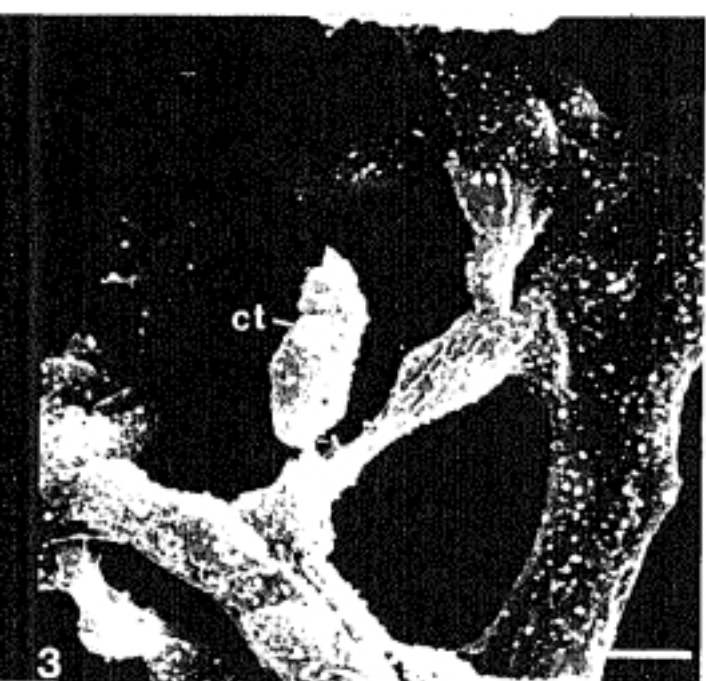
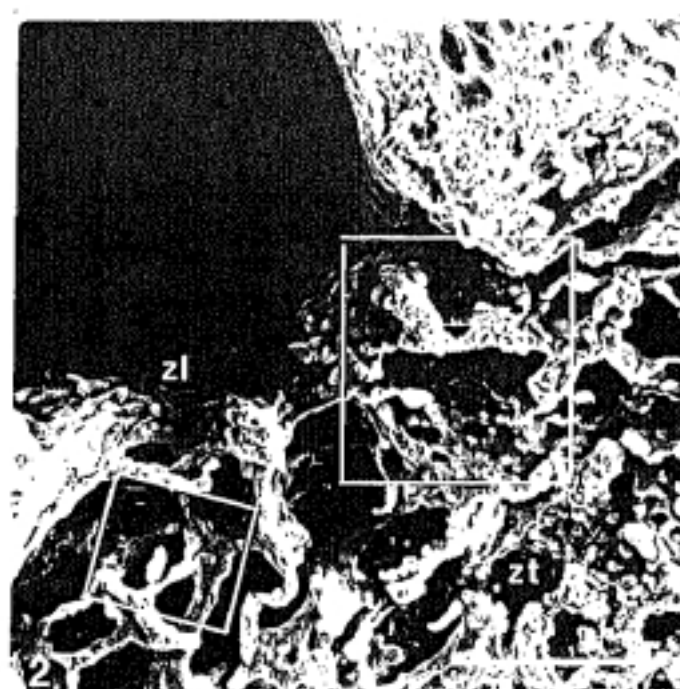
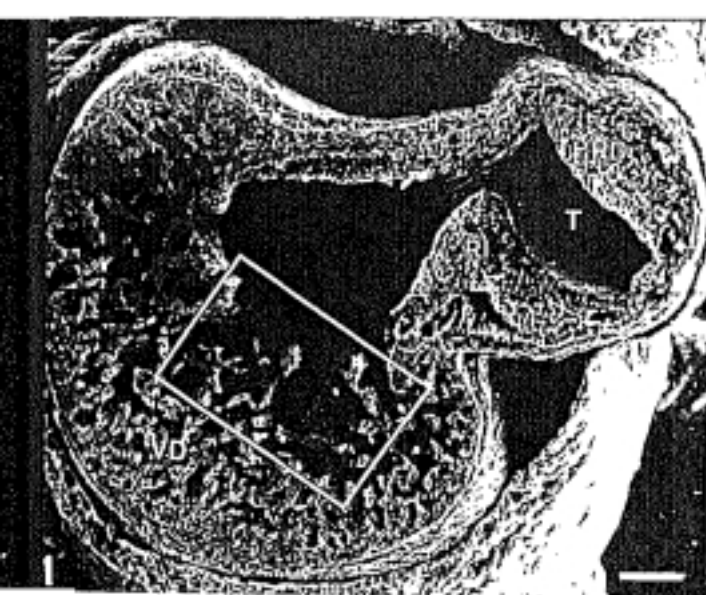
ct: cordón trabecular.

Barra: 10 μ m.

Foto 4. — Detalle de la zona enmarcada en grande de la foto 2.

zl: zona lisa; zt: zona trabeculada.

Barra: 10 μ m.



LAMINA 12 .

Foto 1 . — Embrión McI 90 (E 25 HH). Detalle de la zl del VD. Invaginación del endocardio.

zl: zona lisa.

Barra: 10 μ m.

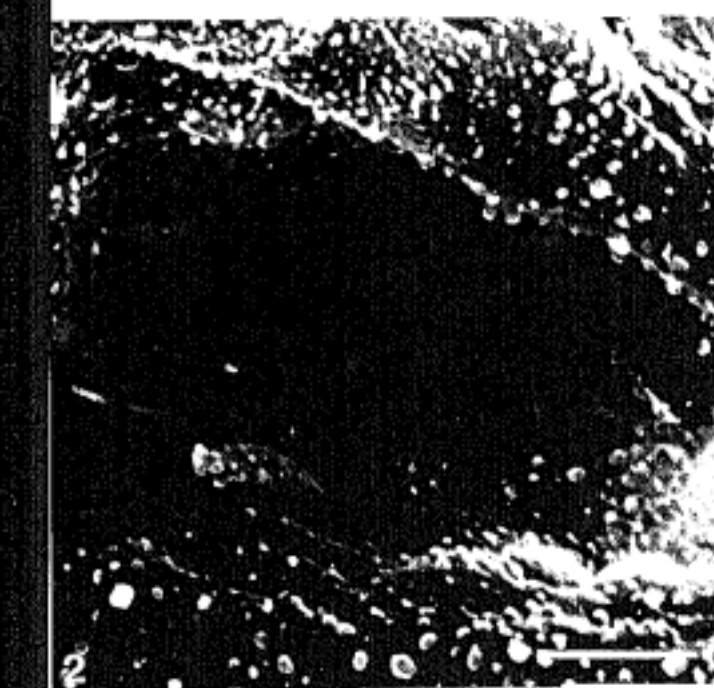
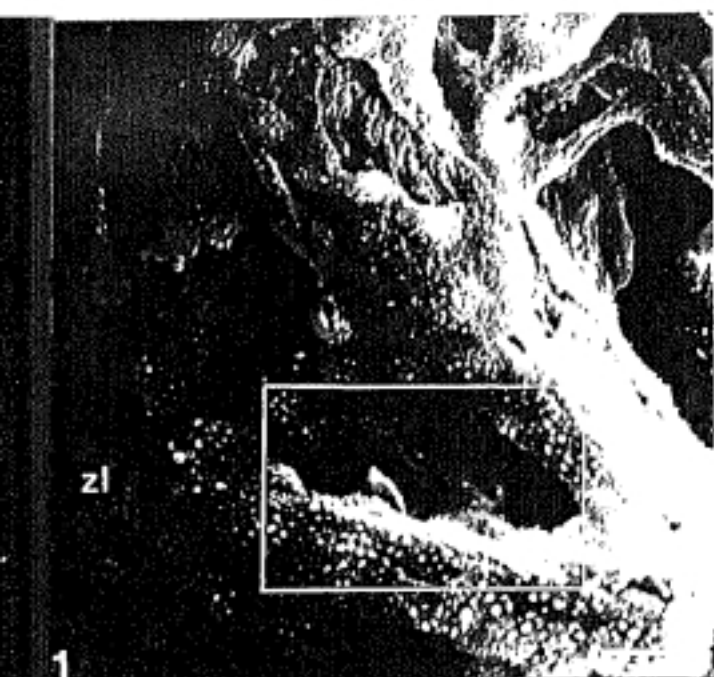
Foto 2 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1. Invaginación del endocardio.

Barra: 10 μ m.

Foto 3 . — Embrión McI 90 (E 25 HH). Diferentes momentos en el proceso de invaginación del endocardio (Asteriscos) a nivel de la zona trabeculada del ventrículo derecho.

zt: zona trabeculada.

Barra: 10 μ m.



LAMINA 13 .

Foto 1 . — Embrión McI 88 (E 25 HH). Trabécula basal del ventrículo derecho.

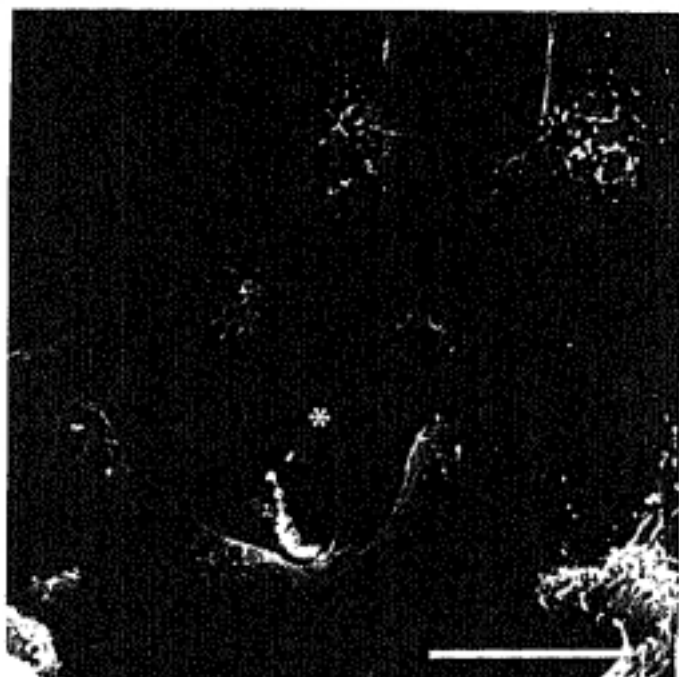
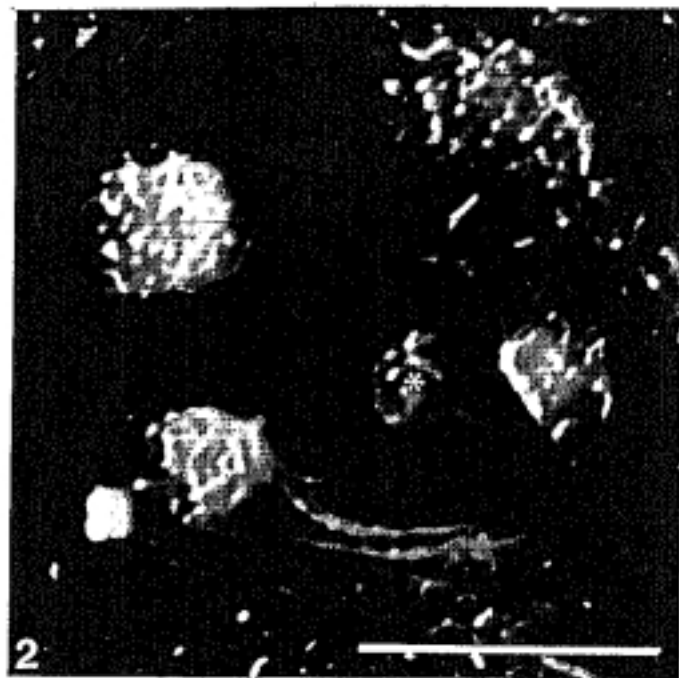
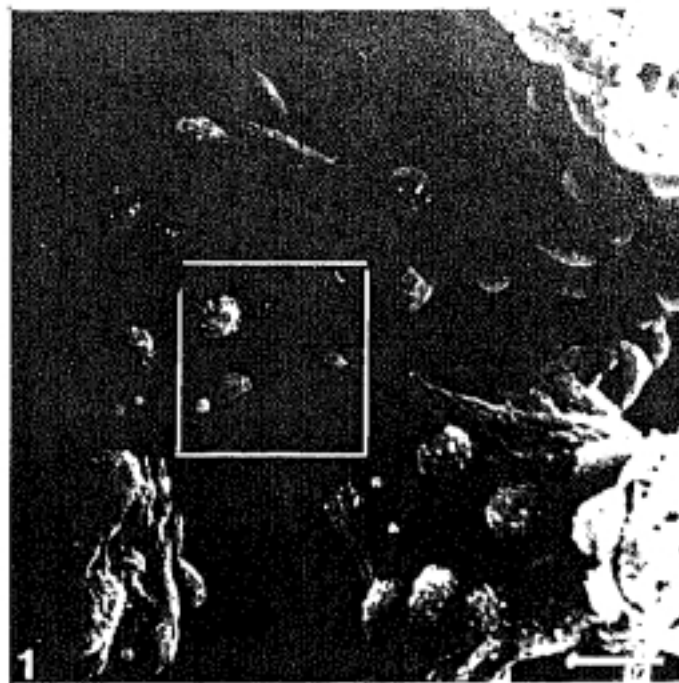
Barra: 10 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1. Invaginación de una célula endocárdica (Asterisco).

Barra: 10 μ m.

Foto 3 . — Embrión McI 92 (E 25 HH). Disposición a modo de roseta de las células endocárdicas en torno a la zona de invaginación (Asterisco) en el ventrículo izquierdo.

Barra: 10 μ m.



LAMINA 14 .

Foto 1 . — Embrión McI 91 (E 25 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

CV: cojinete ventral; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1. Trabécula del ventrículo izquierdo.

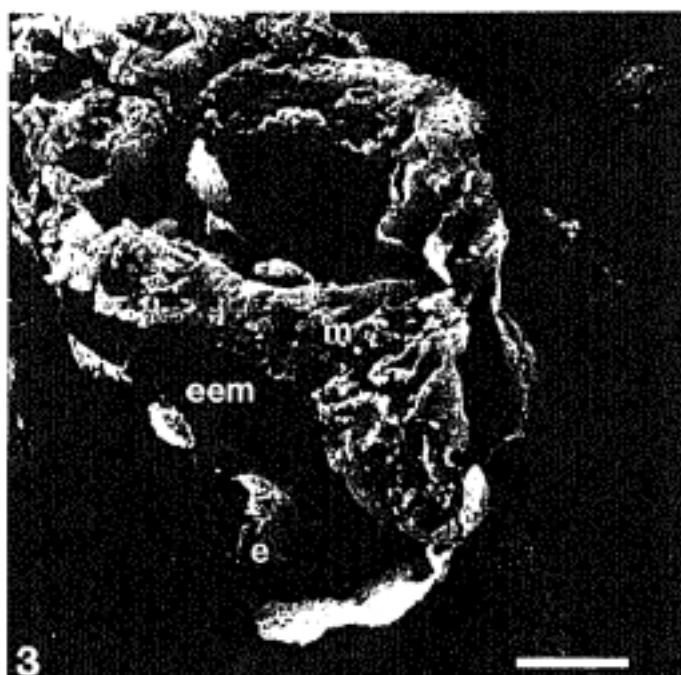
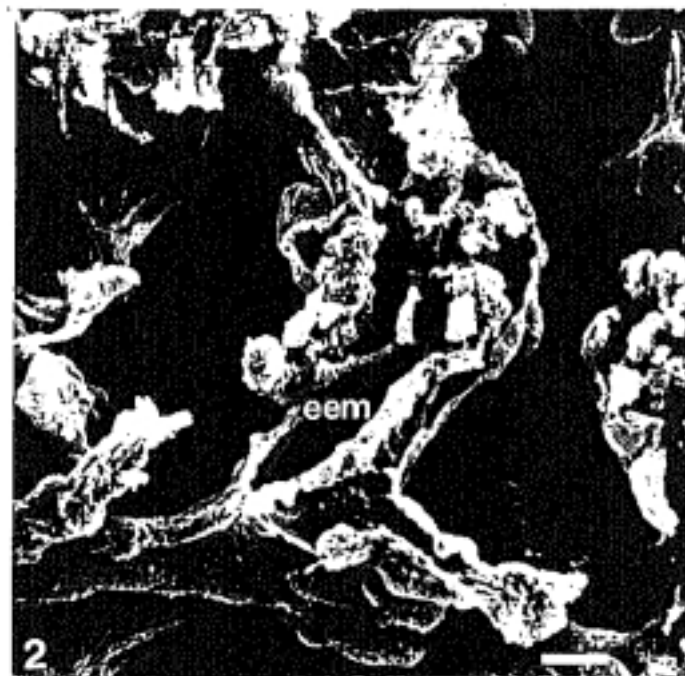
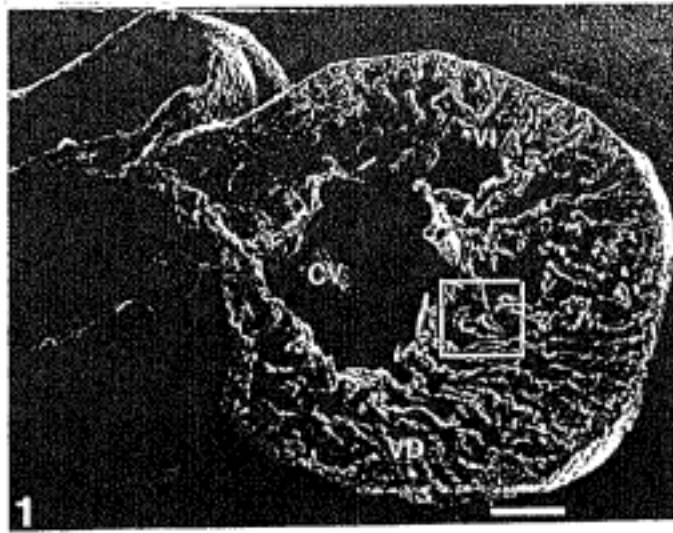
eem: espacio endomiocárdico.

Barra: 10 μ m.

Foto 3 . — Embrión McI 92 (E 25 HH). Trabécula del VI.

e: endocardio; eem: espacio endomiocárdico; m: miocardio.

Barra: 10 μ m.



LAMINA 15.

Foto 1. — Embrión McII 47 (E 26 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Comunicación interventricular (Flecha).

VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Embrión McII 47 (E 26 HH), cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AI: aurícula izquierda; CV: cojinete ventral; sia: *septum interatriale*; T: *truncus arteriosus*.

Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Embrión McII 48 (E 26 HH), cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Comunicación interventricular (Flecha).

ca: cuerno anterior del *septum interventriculare*; CD: cojinete dorsal.

Barra: 100 μ m.

Foto 4. — Embrión McII 48 (E 26 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

cp: cuerno posterior del *septum interventriculare*; sia: *septum interatriale*.

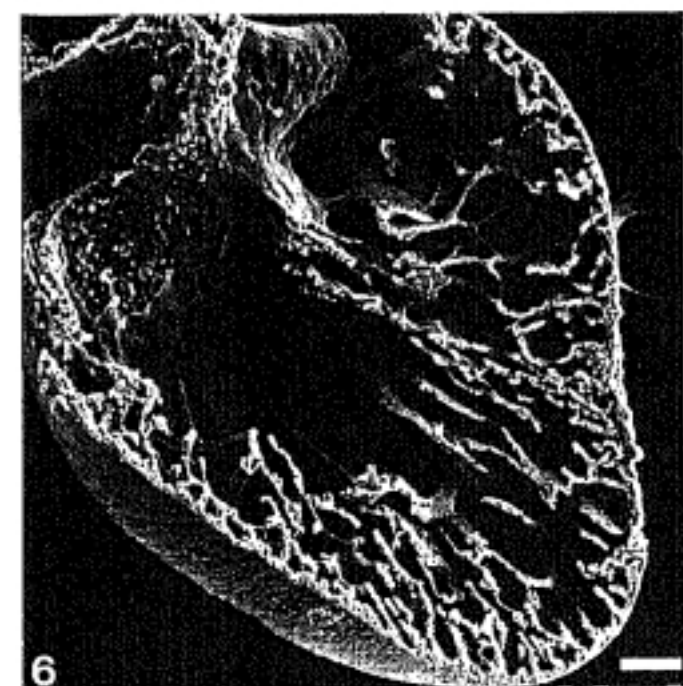
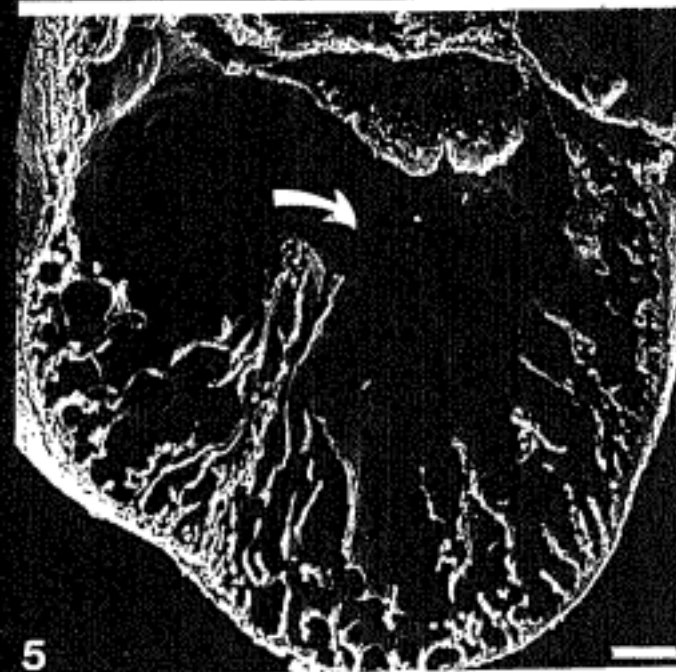
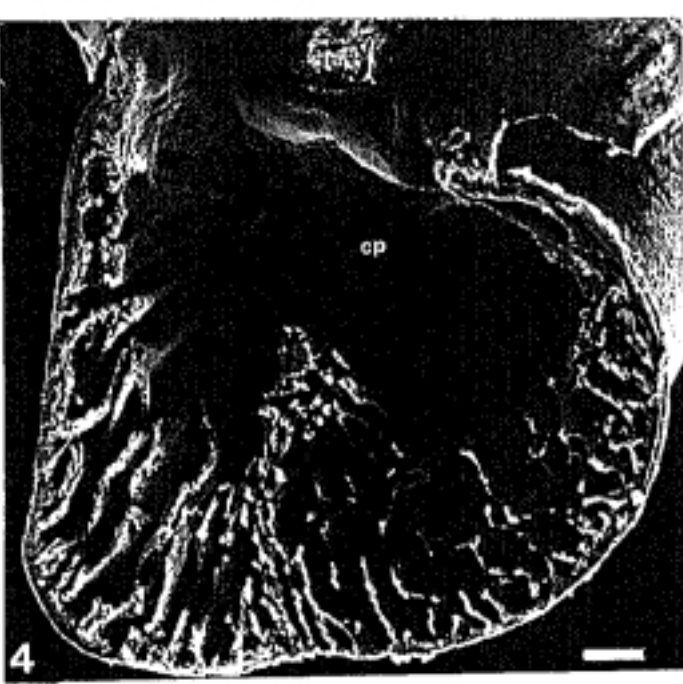
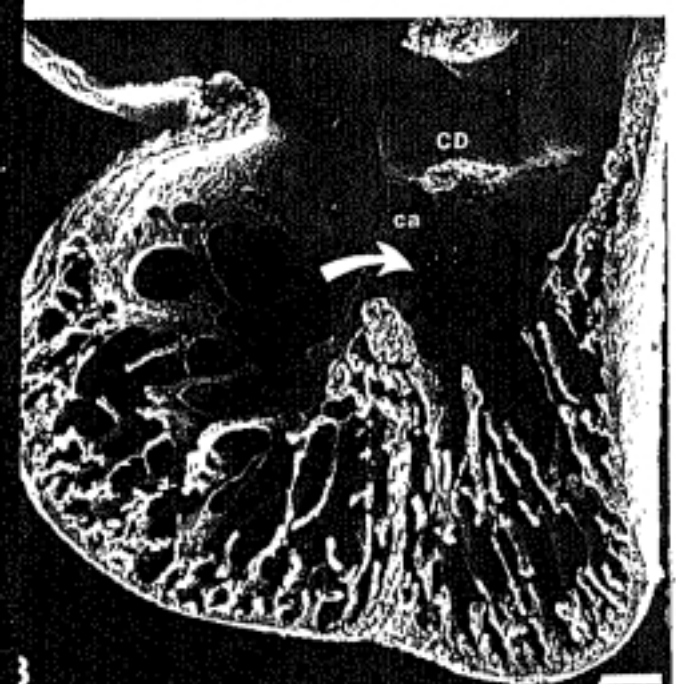
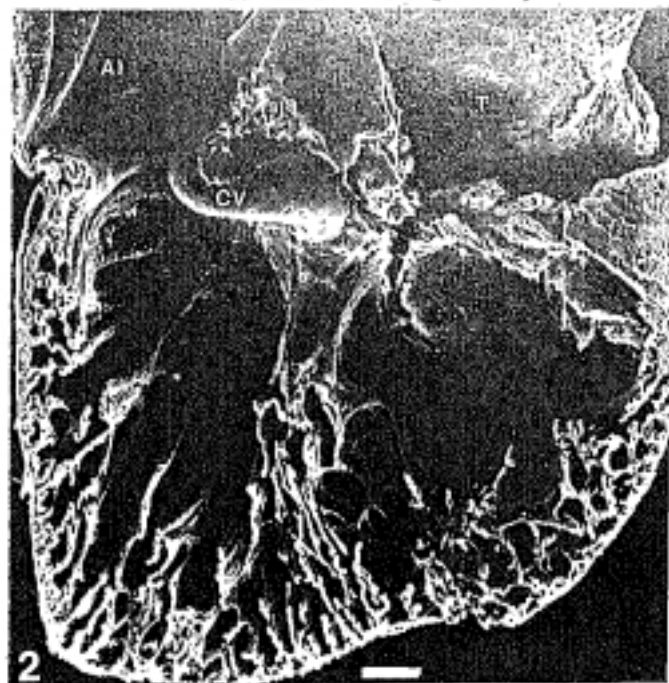
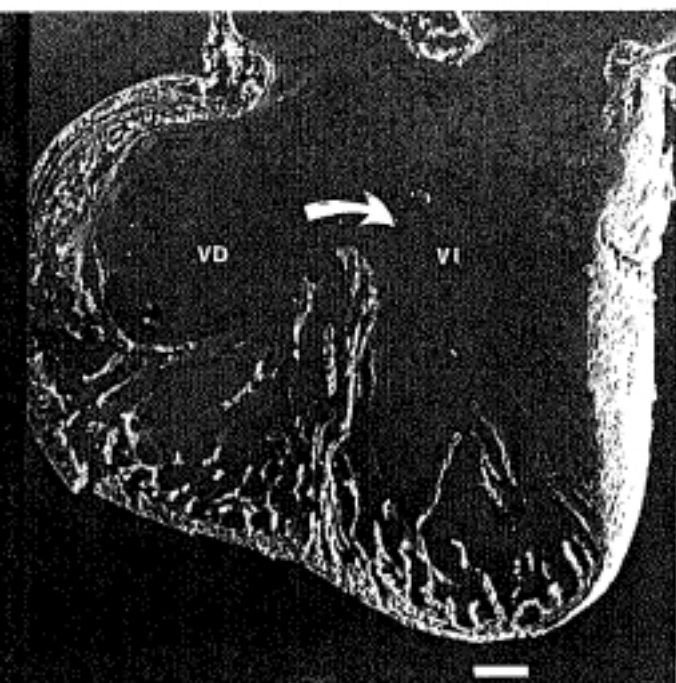
Barra: 100 μ m.

Foto 5. — Embrión McII 49 (E 26 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Comunicación interventricular (Flecha).

Barra: 100 μ m.

Foto 6. — Embrión McII 49 (E 26 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 16 .

Foto 1 . — Embrión McII 53 (E 27 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. La punta de flecha nos indica desde donde se ha hecho la foto 2.

VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la fusión de los cojinetes endocárdicos ventral y dorsal de la foto 1.

oavd: orificio auriculoventricular derecho; CD: cojinete dorsal;

CV: cojinete ventral.

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Detalle de la foto 2 a mayor aumento. Se observa como todavía no ha finalizado la fusión entre ambos cojinetes endocárdicos (Asterisco).

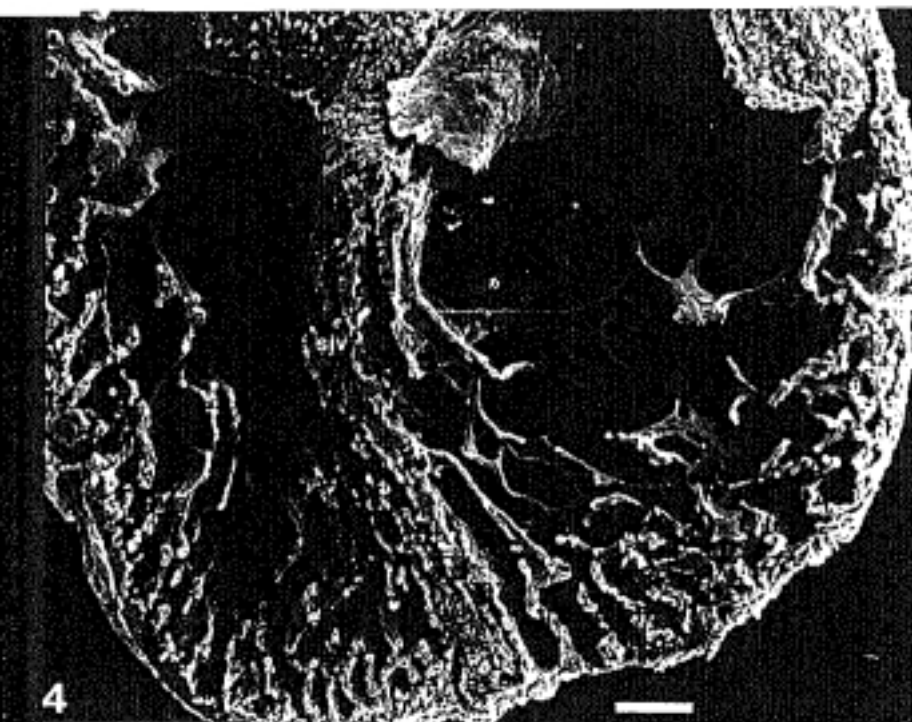
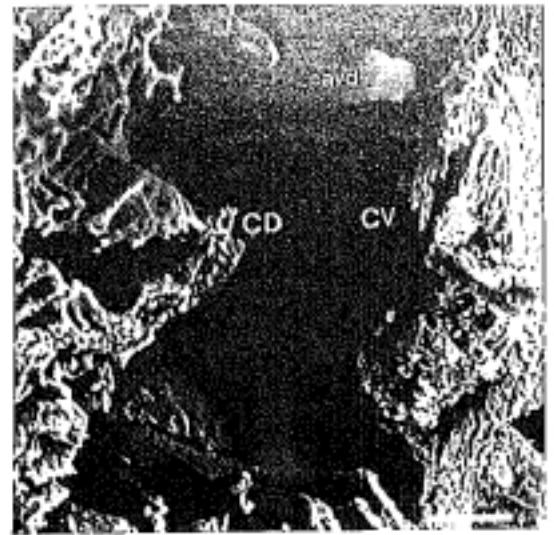
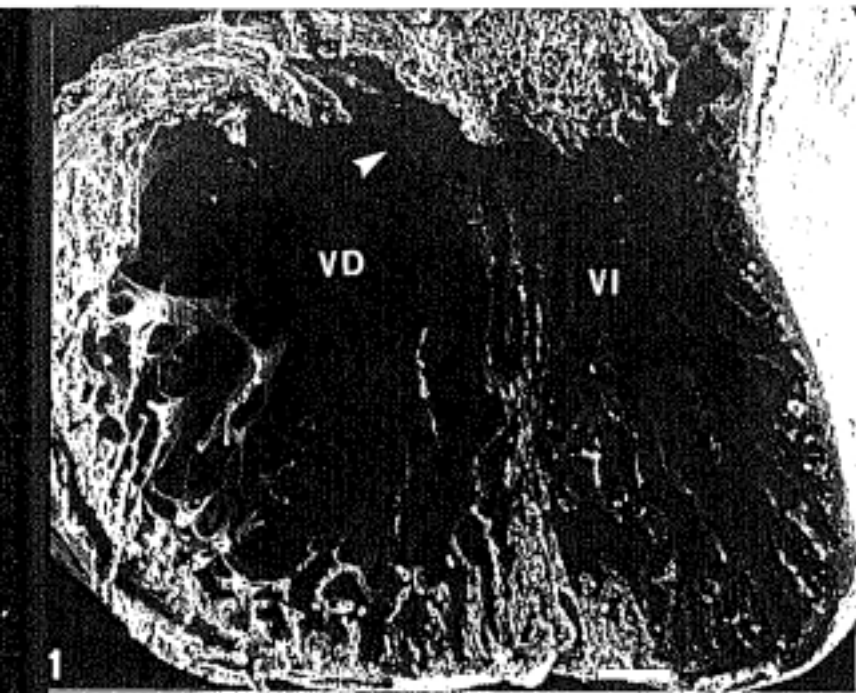
CD: cojinete dorsal; CV: cojinete ventral.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Embrión McII 53 (E 27 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

siv: *septum interventriculare*.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 17.

Foto 1. — Embrión McII 58 (E 28 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Tubérculo derecho (1), tubérculo izquierdo (2) y cojinete lateral izquierdo (4).
AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.
Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Detalle de ambos ventrículos observados en la foto 1.
CIV: comunicación interventricular; siv: *septum interventriculare*; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.
Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Embrión McII 58 (E 28 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal. Cojinete lateral derecho (3).
T: *truncus arteriosus*.
Barra: 100 μ m.

Foto 4. — Detalle de ambos ventrículos observados en la foto 3.
CIV: comunicación interventricular.
Barra: 100 μ m.

LAMINA 18 .

Foto 1 . — Embrión McII 61 (E 29 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Surco interventricular (Punta de flecha).

AD: aurícula derecha; oavi: orificio auriculoventricular izquierdo; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Embrión McII 61 (E 29 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

CIV: comunicación interventricular; T: *truncus arteriosus*.

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Embrión McII 64 (E 29 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal. La punta de flecha indica la localización del detalle fotografiado en la foto 5.

Barra: 100 μ m.

Figura 4 . — Representación esquemática de la foto 3. ca, cp: cuerno ant. y post. del *septum interventriculare*; CD, CV: cojinetes dorsal y ventral; oavd, oavi: orificio auriculoventricular dcho. e izdo.; RD, RI: rodetes dcho. e izdo.

Foto 5 . — Detalle de la zona señalada por la punta de flecha en la foto 3. Fusión de los cojinetes ventral y dorsal. Comunicación infundíbuloatrial (Asterisco).

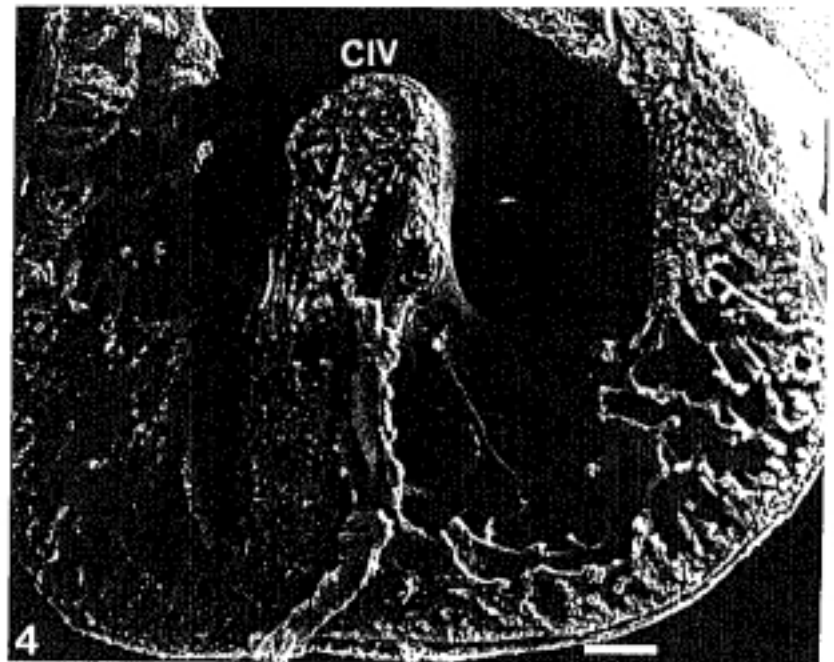
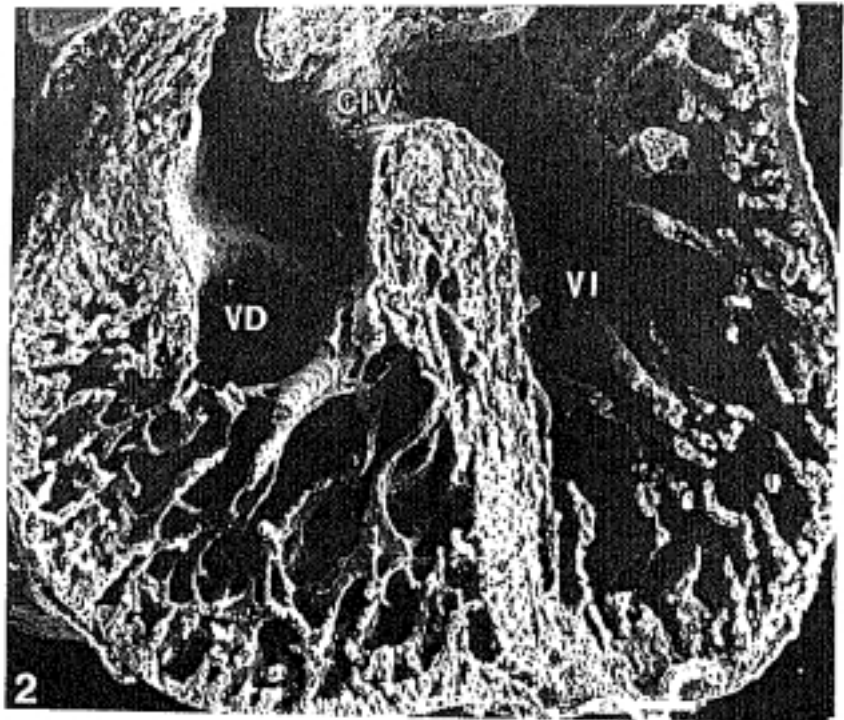
CD: cojinete dorsal; CV: cojinete ventral.

Barra: 10 μ m.

Foto 6 . — Embrión McII 64 (E 29 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

ca, cp: cuerno anterior y posterior del *septum interventriculare*; CIV: comunicación interventricular; VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 19 .

Foto 1 . — Embrión McII 69 (E 30 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

CIV: comunicación interventricular; IA: infundíbulo aórtico; IP: infundíbulo pulmonar; siv: *septum interventriculare*.

Barra: 100 µm.

Foto 2 . — Detalle del ventrículo dcho. de la foto 1. oavd: orificio auriculoventricular derecho; CIV: comunicación interventricular; IP: infundíbulo pulmonar; RD: rodete derecho; RI: rodete izquierdo.

Barra: 100 µm.

Foto 3 . — Embrión McII 68 (E 30 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD, AI: aurícula derecha e izquierda; IA: infundíbulo aórtico.

Barra: 1000 µm.

Foto 4 . — Embrión McII 68 (E 30 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

IA: infundíbulo aórtico; T: *truncus arteriosus*.

Barra: 1000 µm.

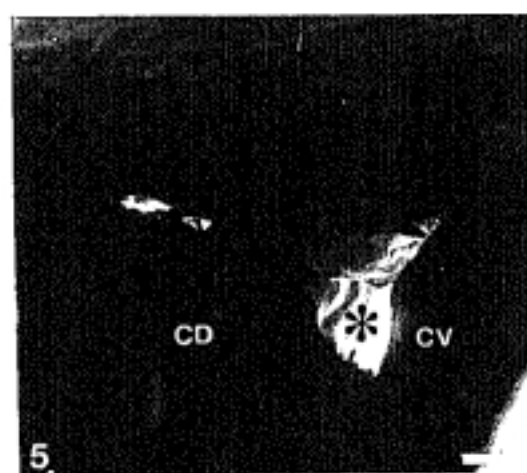
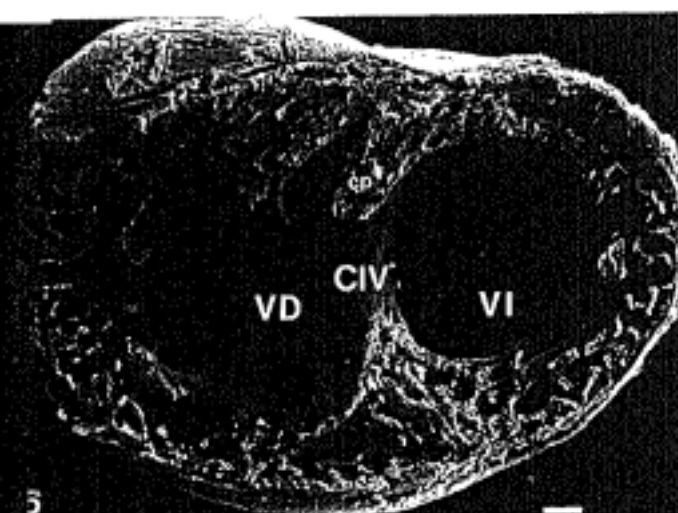
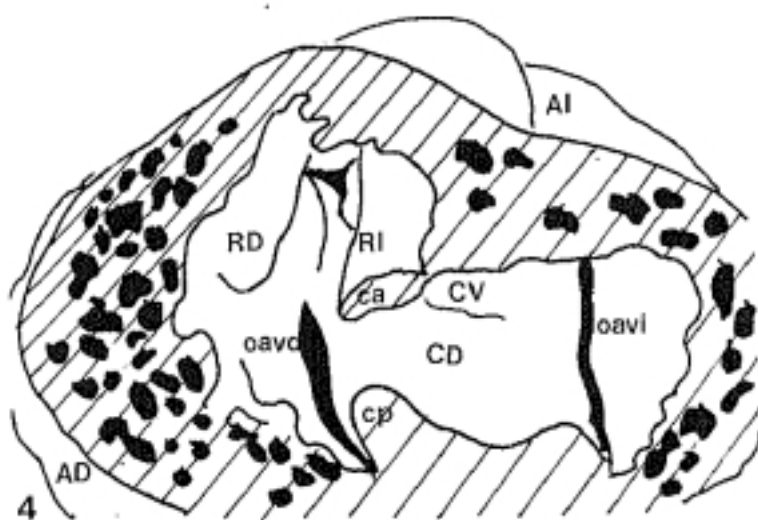
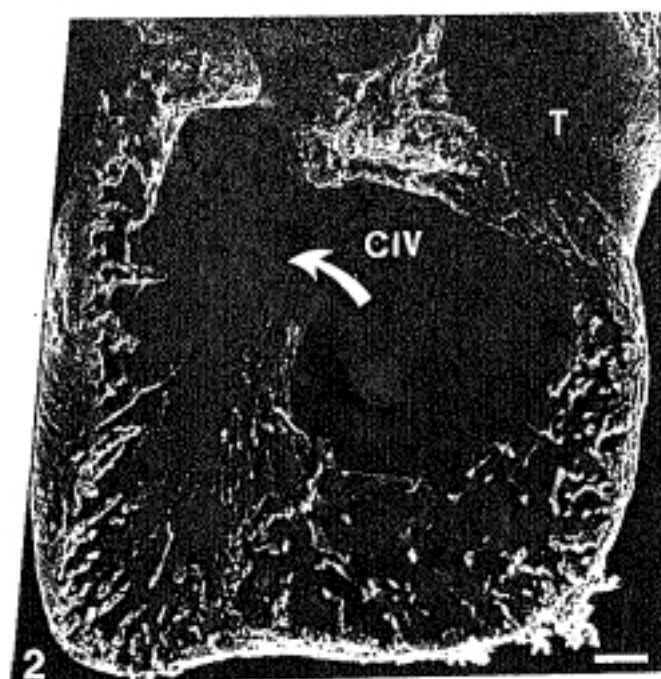
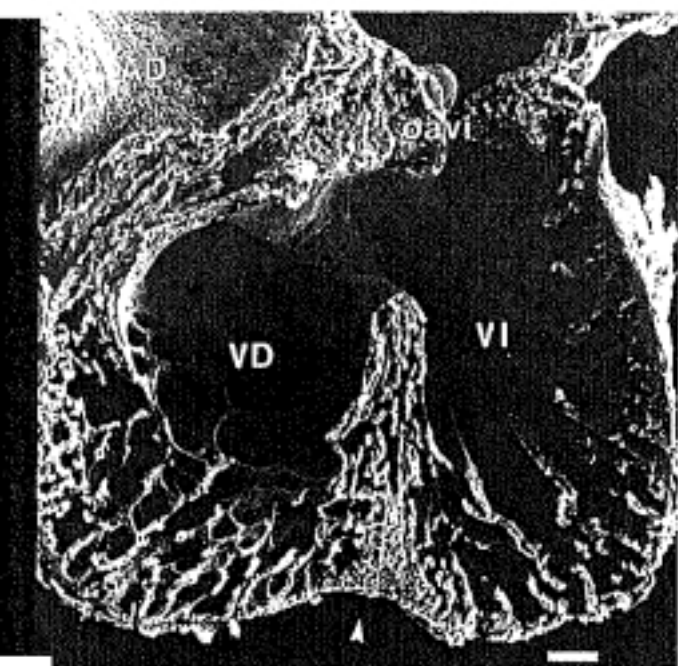
Foto 5 . — Detalle infundíbulo aórtico de la foto 4.

AI: aurícula izda.; IA: infundíbulo aórtico; T: *truncus*.

Barra: 100 µm.

Foto 6 . — Detalle de la comunicación interventricular membranosa de la foto 5. Comunicación interinfundibular (Asterisco). *Septum interventriculare* (1) y tubérculo derecho del *septum intermedium* (2) limitando con el tabique del truncus la CIV; CIV: comunicación interventricular; RD, RI: rodete dcho. e izdo.

Barra: 100 µm.



LAMINA 20.

Foto 1. — Embrión **McI 64** (E 30 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

oavi: orificio auriculoventricular izquierdo; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1.
zl: zona lisa; zt: zona trabeculada.

Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Detalle a mayor aumento de la foto 2.

Barra: 10 μ m.

LAMINA 21.

Foto 1. — Embrión McII 71 (E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.

Foto 2. — Embrión McII 71 (E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

Barra: 100 μ m.

Foto 3 "sacada directamente de la pantalla".- Detalle de la foto 1. Pared posterior del IA.

IA: infundíbulo aórtico.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 "sacada directamente de la pantalla".- Detalle de la foto 3.

Barra: 10 μ m.

Foto 5. — Embrión McII 73 (E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

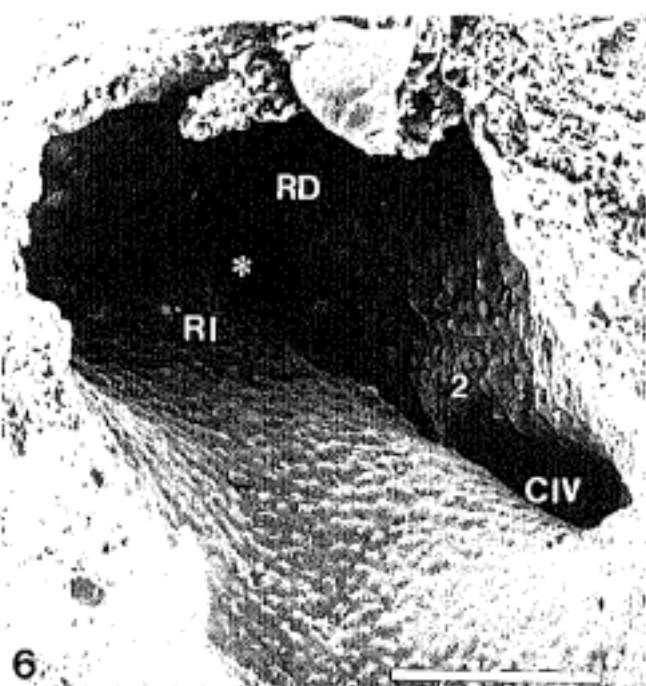
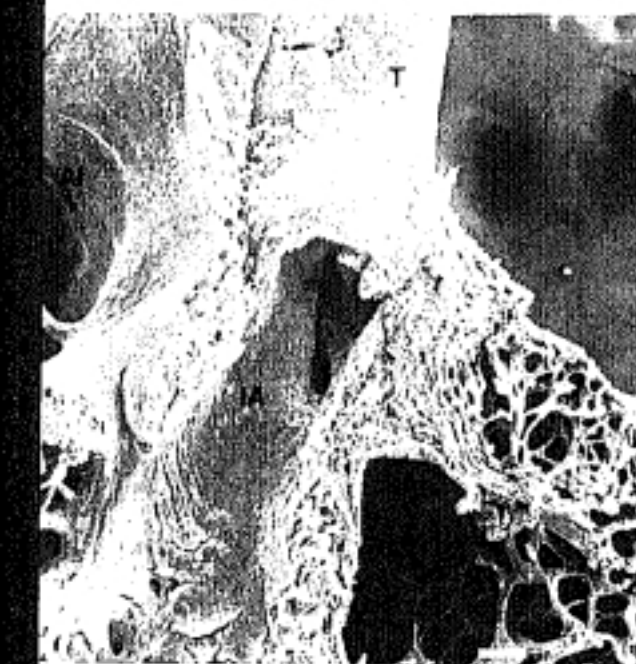
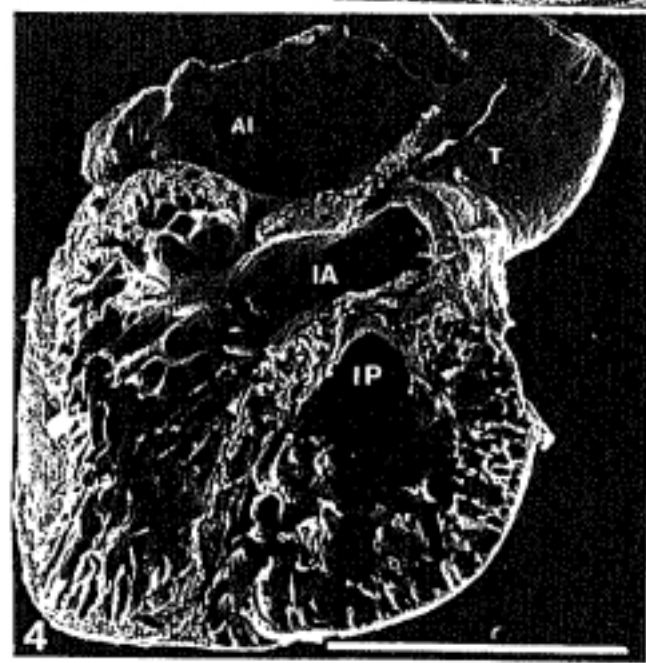
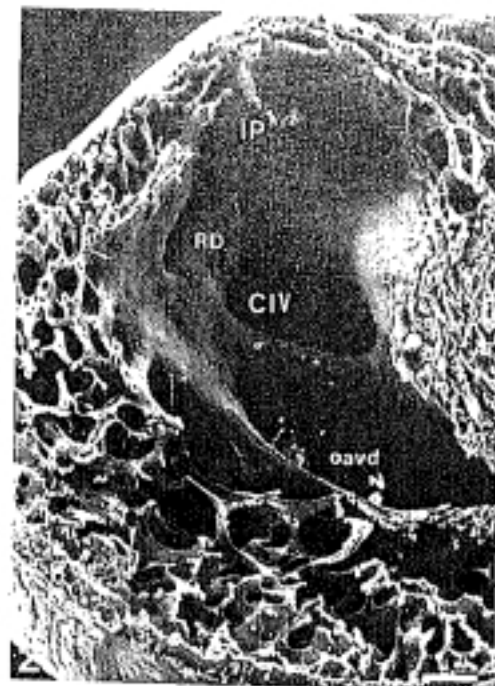
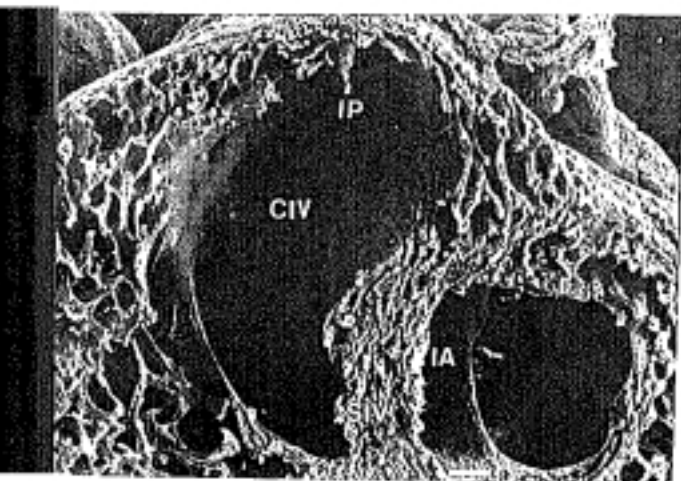
Barra: 1000 μ m.

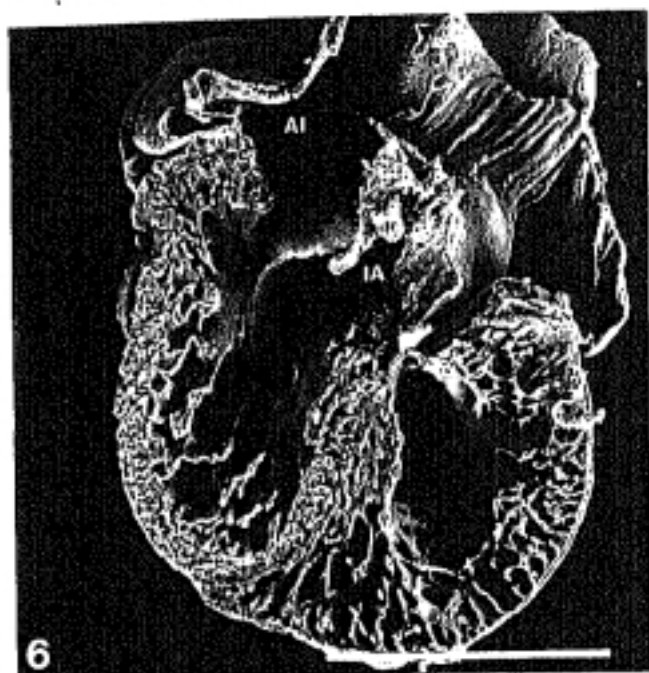
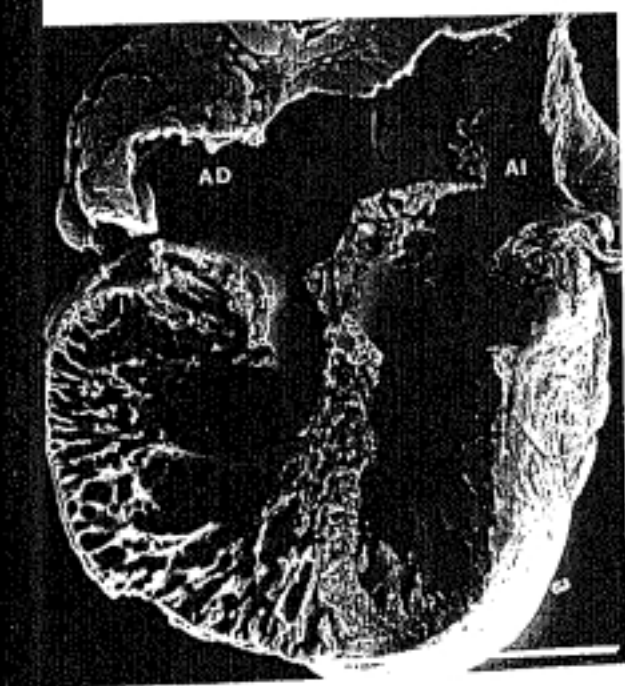
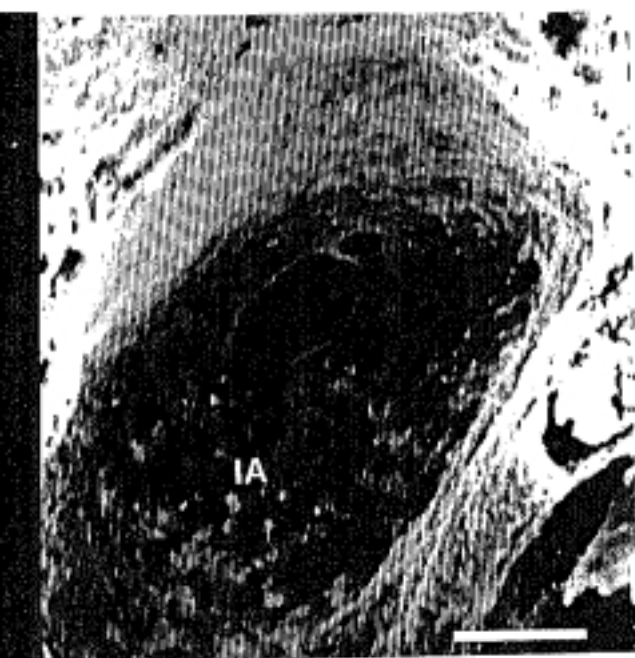
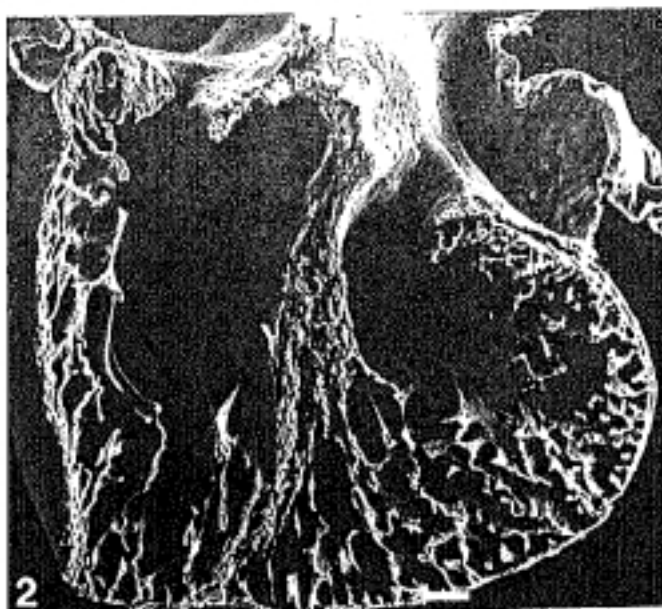
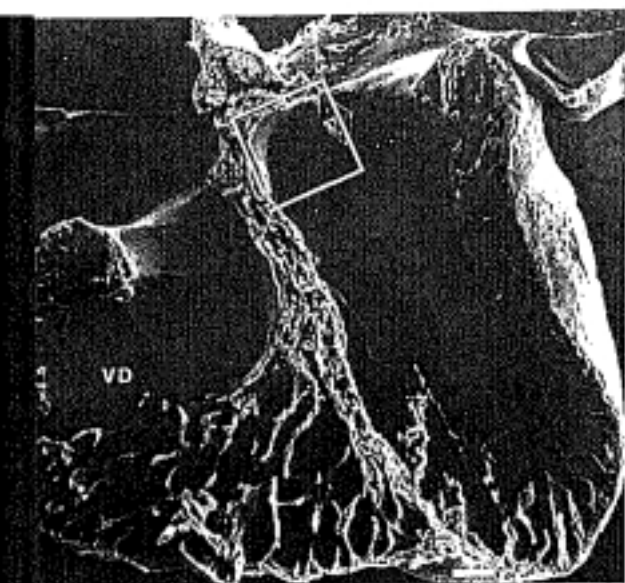
Foto 6. — Embrión Mc 73 (E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AI: aurícula izquierda; IA: infundíbulo aórtico.

Barra: 1000 μ m.

E 30 HH (6½ - 7d.)





LAMINA 22 .

Foto 1 .— Embrión McII 72 (E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2 .— Embrión Mc 72 (E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

IA, IP: infundíbulo aórtico y pulmonar; P: arteria pulmonar.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3 .— Detalle de la foto 2. El fragmento ventral ha sido girado 45° para poder observar por su lado derecho la salida de la aorta.

A: arteria aorta; IA: infundíbulo aórtico; P: arteria pulmonar.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 .— Detalle de la valva parietal del orificio auriculoventricular derecho observada en la foto 2.

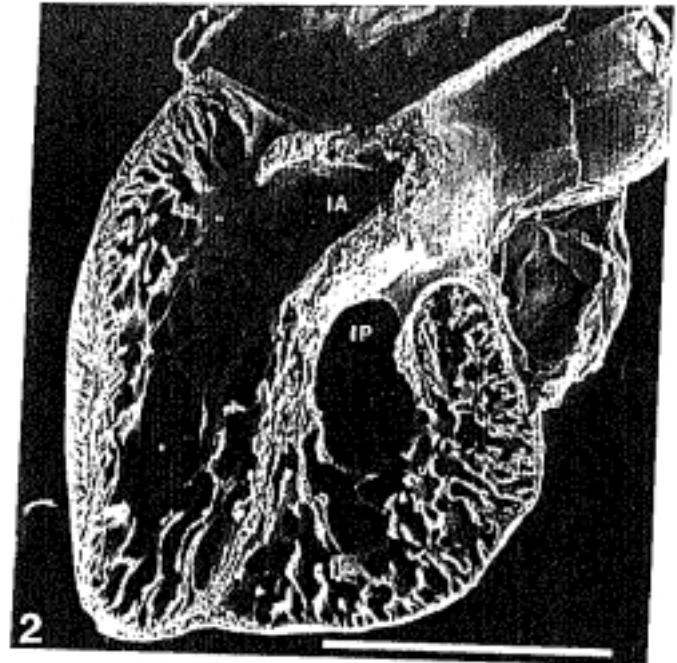
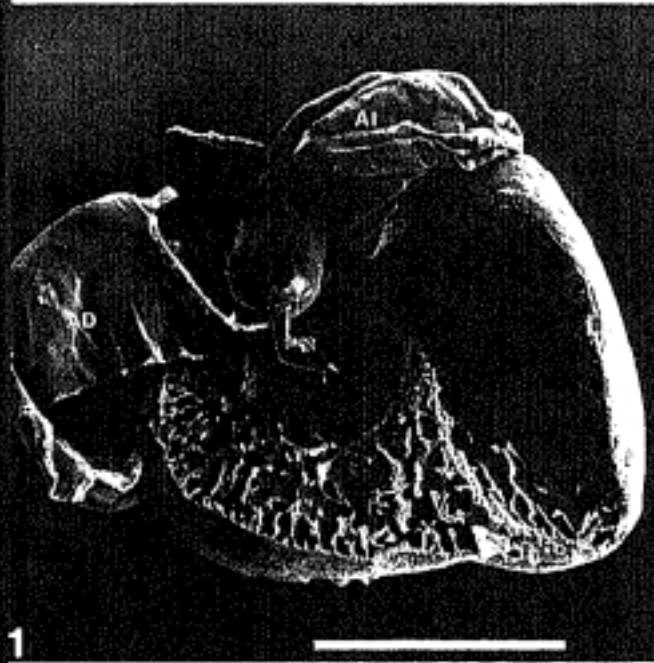
AD: aurícula derecha; oavd: orificio auriculoventricular derecho;

IP: infundíbulo pulmonar; vp: valva parietal.

Barra: 100 μ m.

Figura 5 .— Representación esquemática de la zona enmarcada en la foto 3. Comunicación interinfundibular (Asterisco).

A: arteria aorta; CIV: comunicación interventricular; sai: sigmoidea aórtica izquierda; sap: sigmoidea aórtica pulmonar.



LAMINA 23.

Foto 1. — Embrión McII 76 (E 32 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda; VD: ventrículo derecho.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión McII 76 (E 32 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AI: aurícula izquierda; oavd: orificio auriculoventricular derecho; fs: *foramen secundum*; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3. — Embrión McII 77 (E 32 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda; fs: *foramen secundum*; sia: *septum interatriale*.

Barra: 1000 μ m.

Foto 4. — Embrión McII 77 (E 32 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 5. — Embrión McII 78 (E 32 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

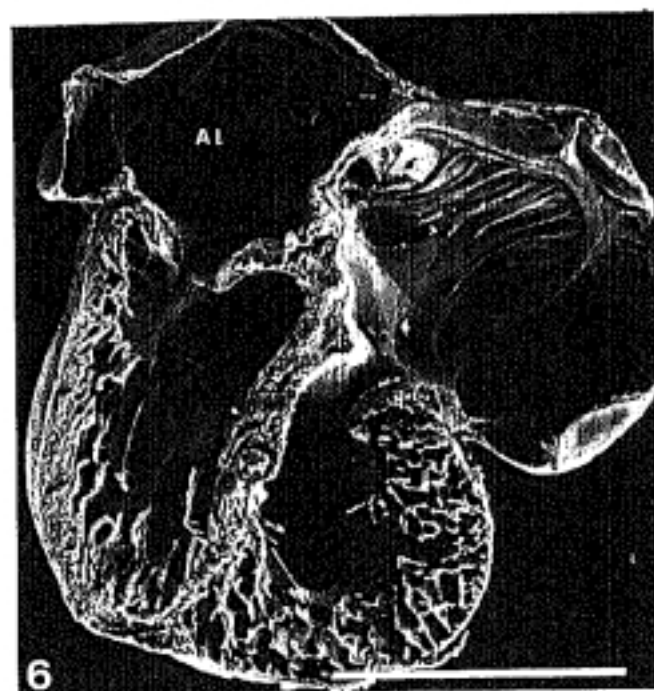
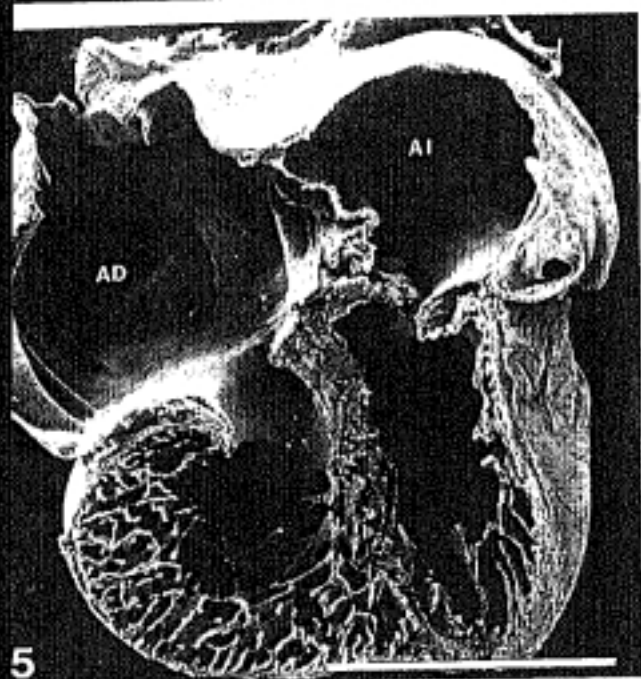
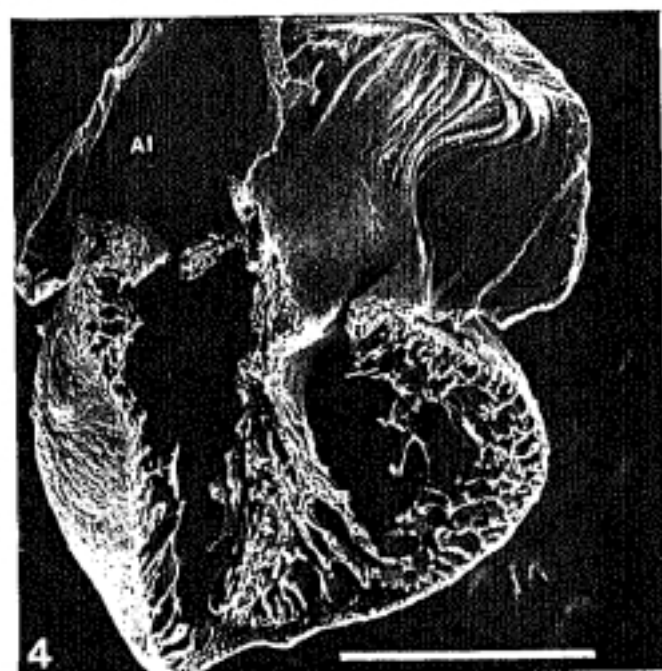
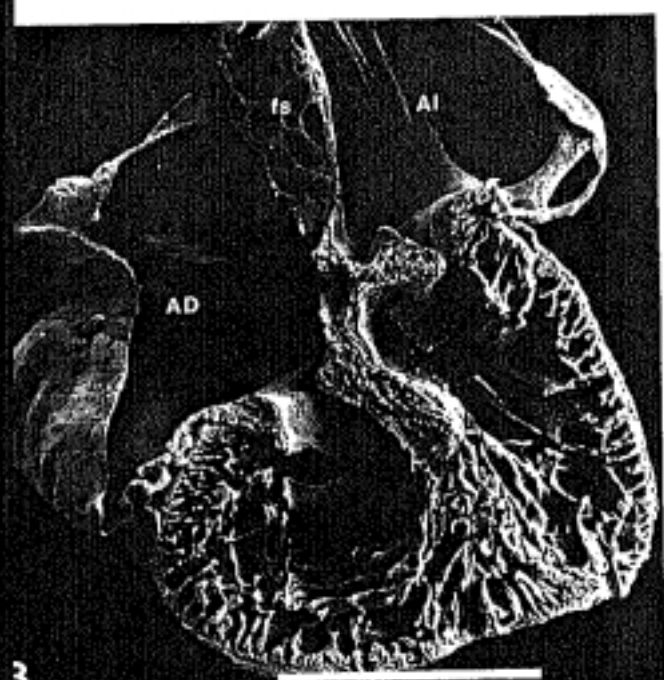
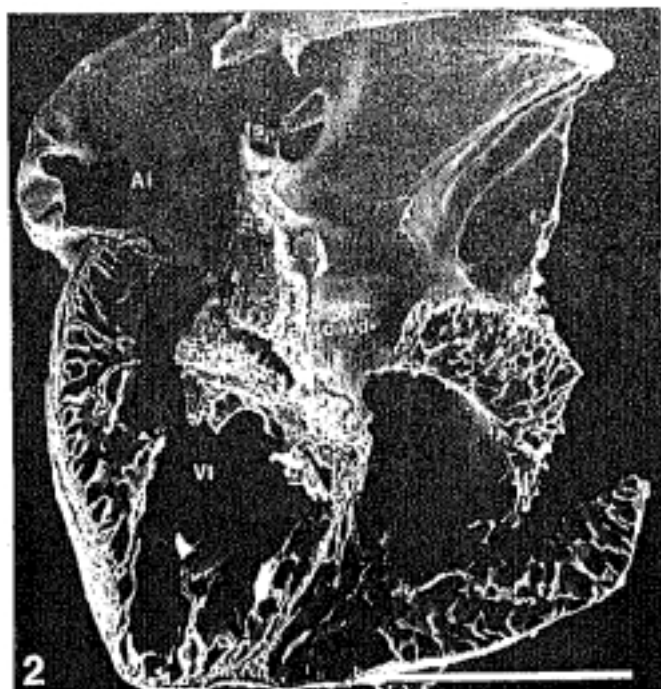
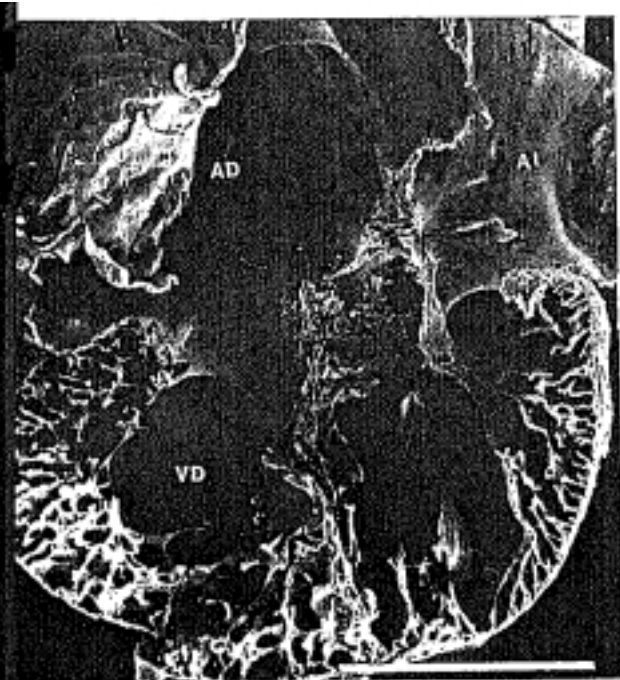
AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 6. — Embrión McII 78 (E 32 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.



LAMINA 24 .

Foto 1 . — Embrión McII 84 (E 33 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal. Borde libre de la valva parietal del orificio auriculoventricular derecho (Asterisco).

AI: aurícula izquierda; P: arteria pulmonar.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 . — Detalle de la foto 1 a mayor aumento. Cresta supraventricular (Asterisco).

oavd, oavi: orificio auriculoventricular dcho. e izdo.; IA, IP: infundíbulo aórtico y pulmonar; siv: *septum interventriculare*.

Barra: 100 μm .

Foto 3 . — Embrión McII 84 (E 33 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 4 . — Embrión McII 81 (E 33 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

BM: banda moderatriz; VD, VI: ventrículo dcho. e izdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 5 . — Embrión McII 81 (E 33 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

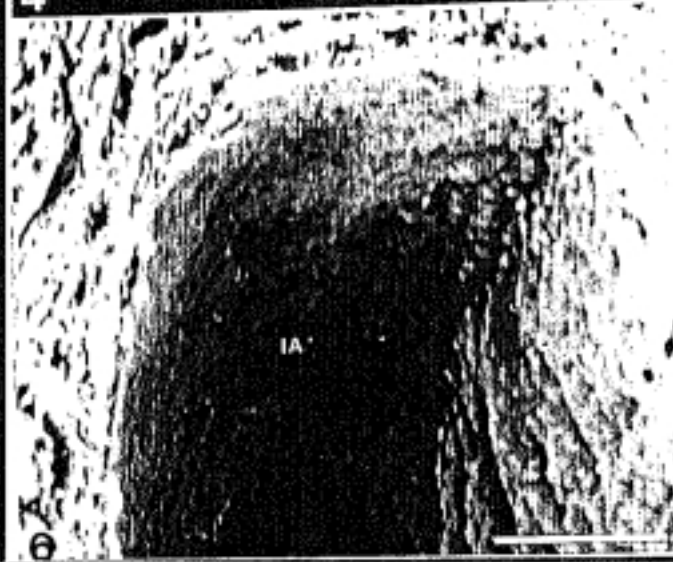
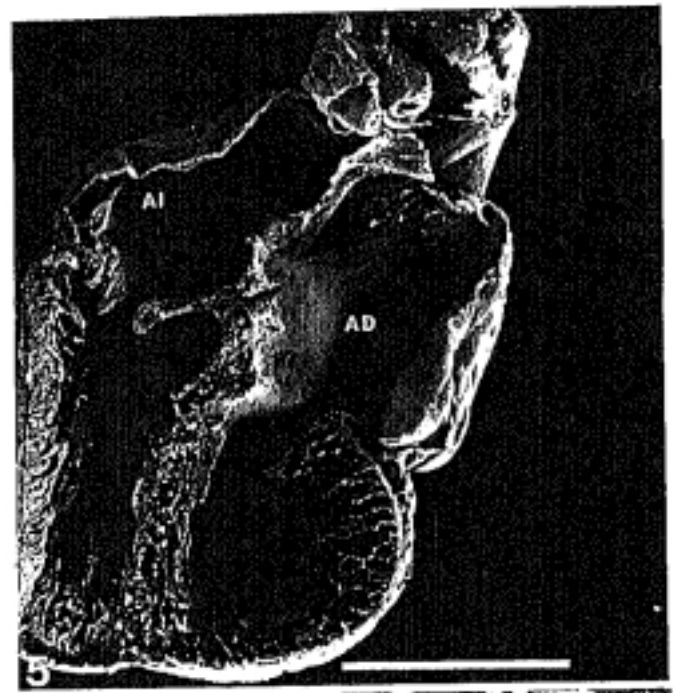
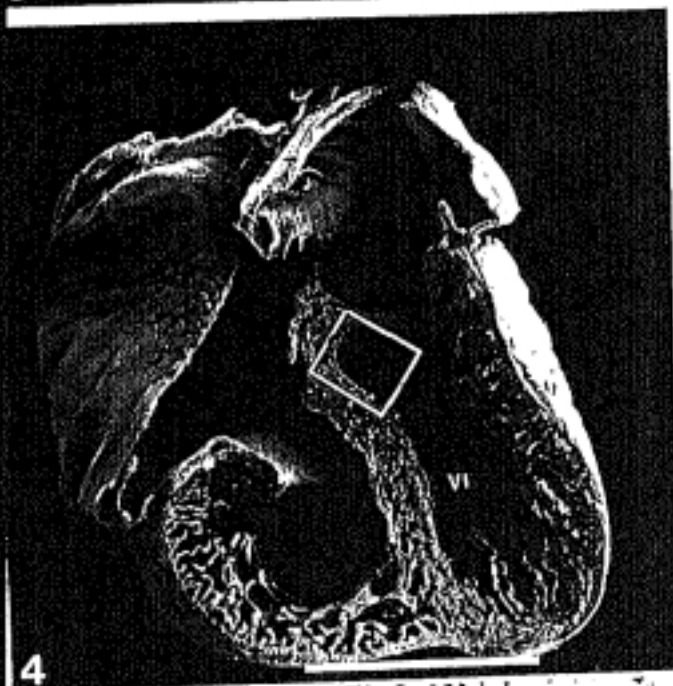
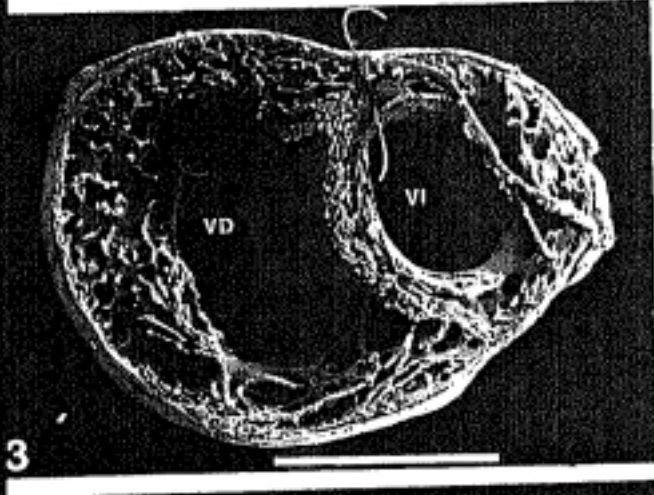
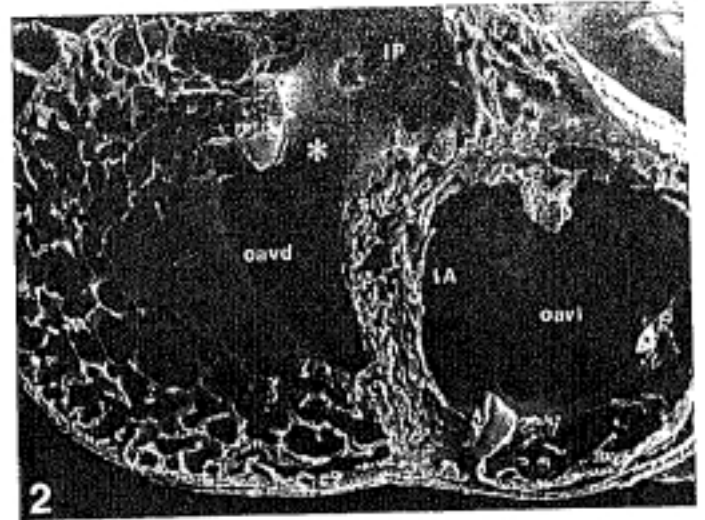
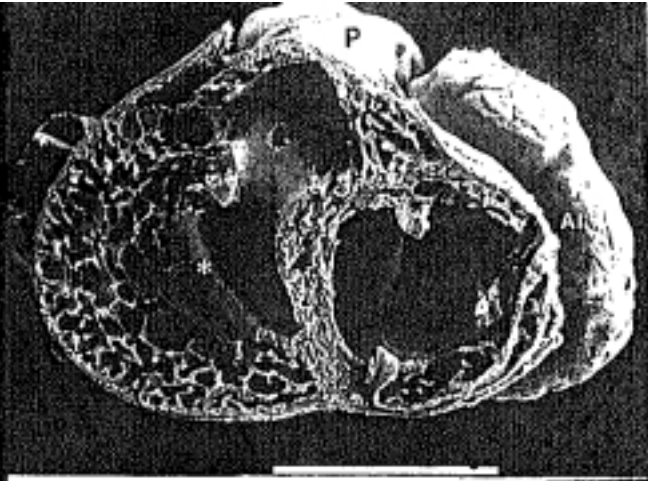
Barra: 1000 μm .

Foto 6 "sacada directamente de la pantalla". — Detalle de la zona enmarcada en la foto 4. Pared posterior del infundíbulo aórtico (IA).

Barra: 100 μm .

Foto 7 "sacada directamente de la pantalla". — Detalle de la foto 6 a mayor aumento.

Barra: 10 μm .



LAMINA 25.

Foto 1. — Embrión McII 88 (E 34 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Detalle de ambos ventrículos observados en la foto 1.

VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Embrión McII 88 (E 34 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

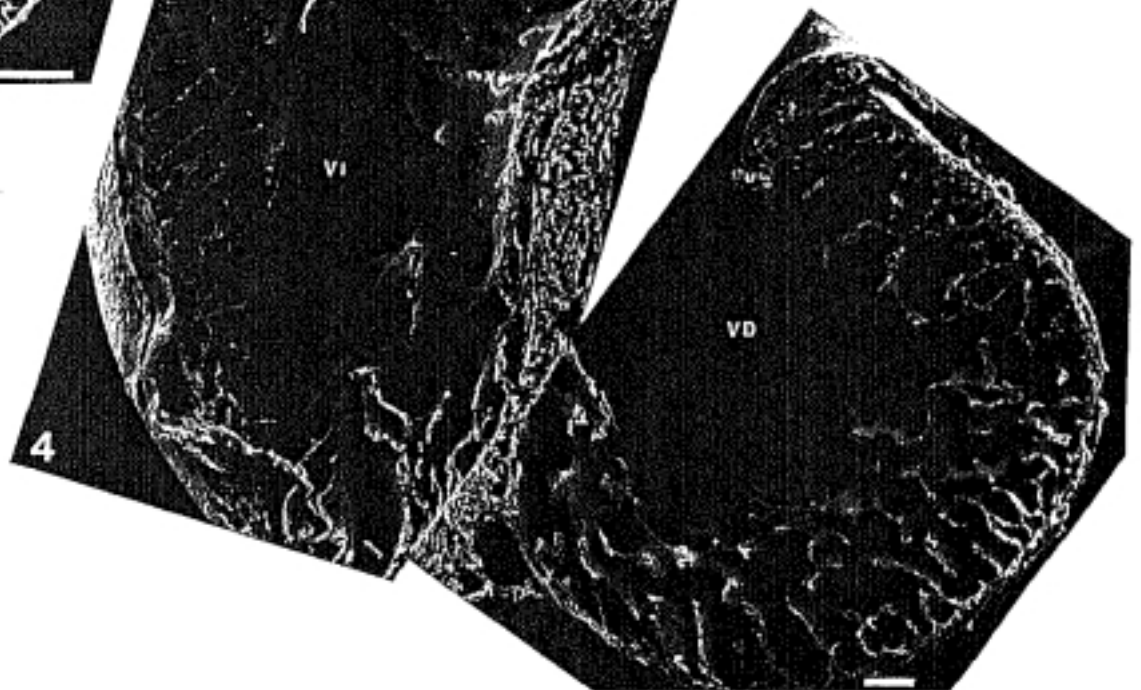
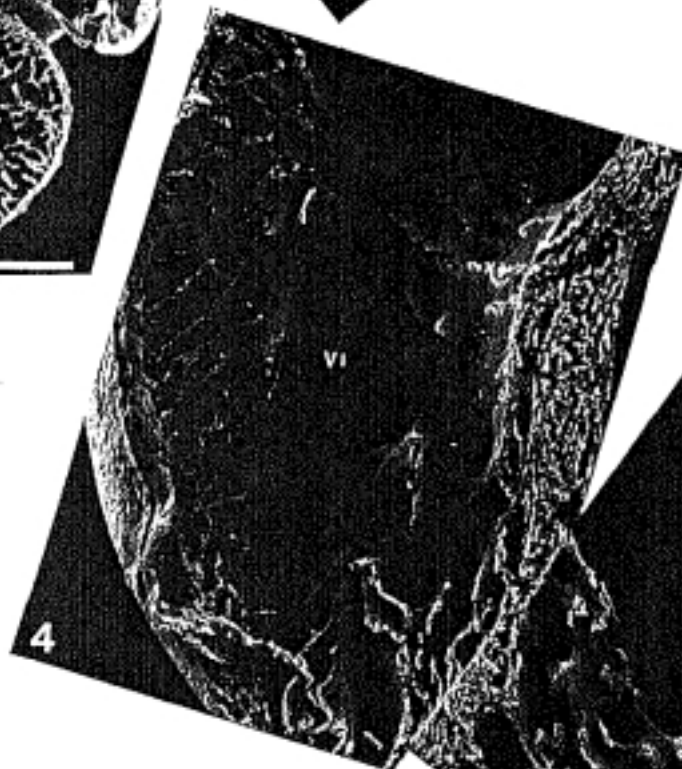
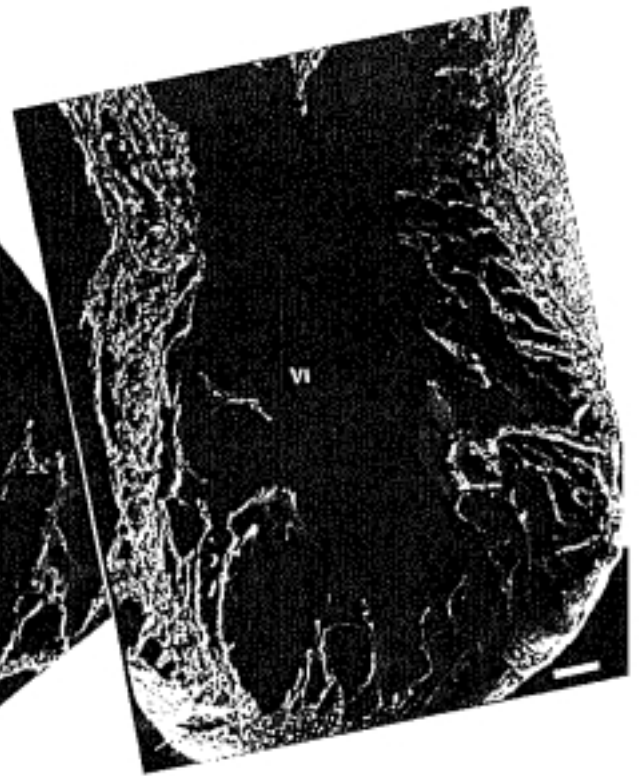
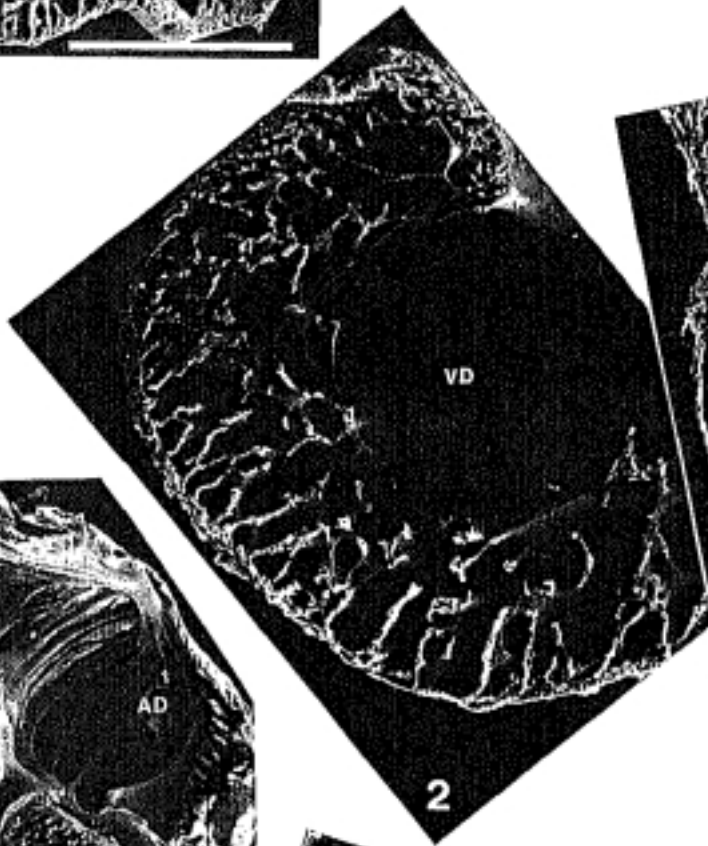
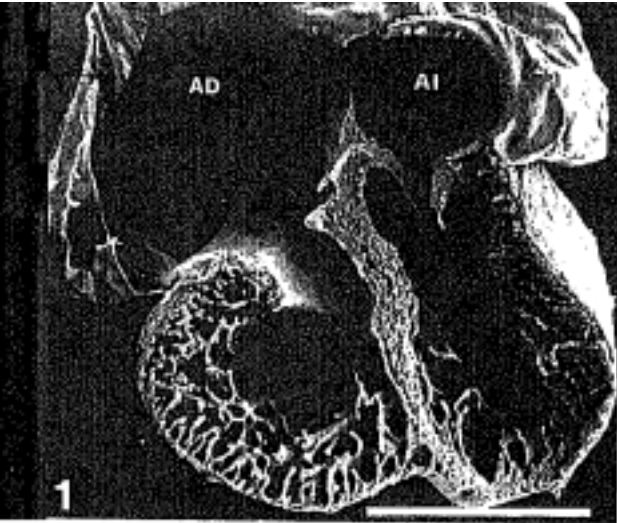
AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda; IA: infundíbulo aórtico.

Barra: 1000 μ m.

Foto 4. — Detalle de ambos ventrículos observados en la foto 3.

VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.



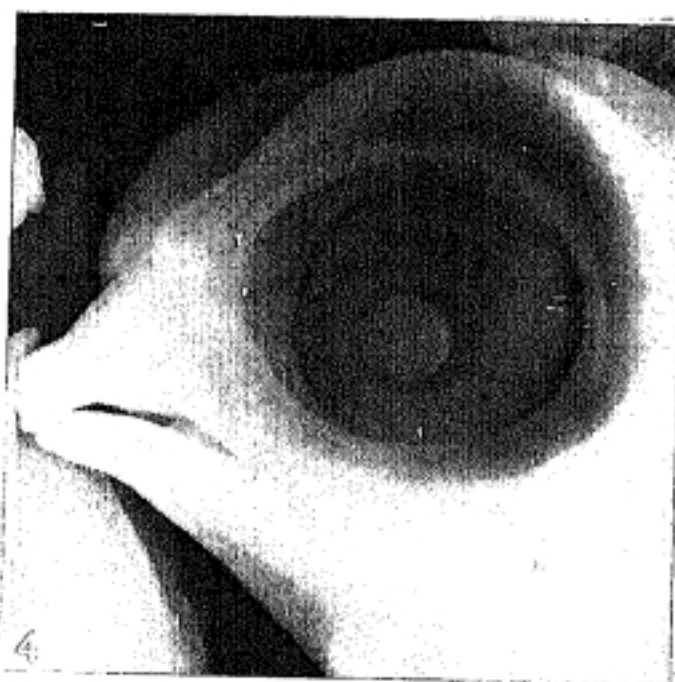
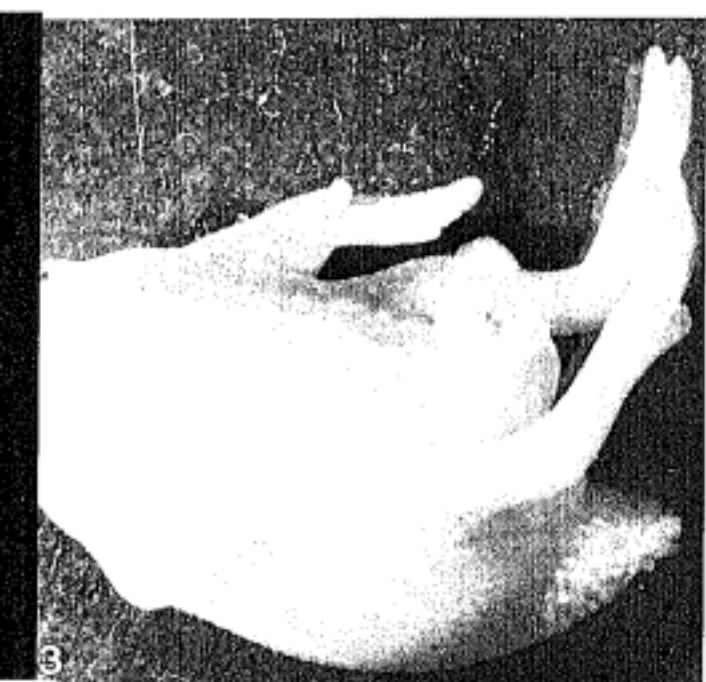
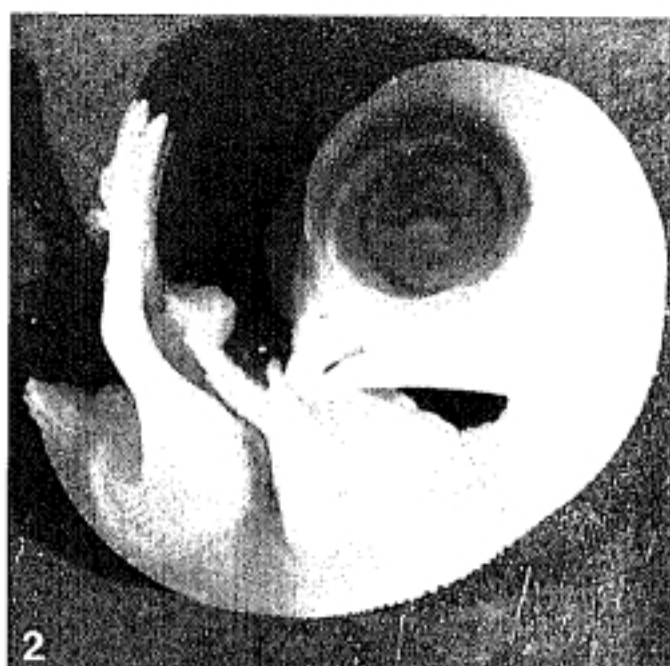
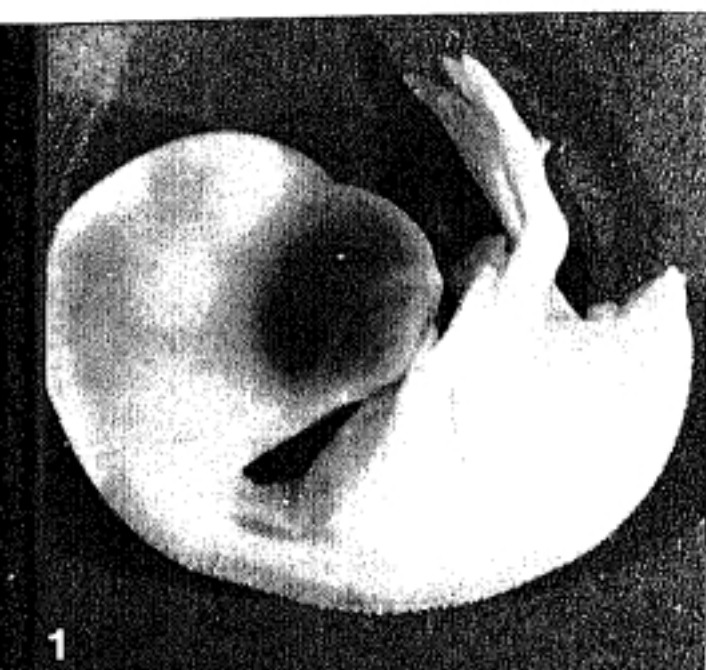
LAMINA 26.

Foto 1. — Embrión McI 35 (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 6'3.

Foto 2. — Embrión McI 35 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 6'3.

Foto 3. — Embrión McI 35 (E 35 HH). Visión ventral del tronco x 8.

Foto 4. — Embrión McI 35 (E 35 HH). Visión lateral izquierda de la cabeza x 12'5.



LAMINA 27.

Foto 1. — Embrión McII 92 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda; **siv:** *septum interventriculare*.

Barra: 1000 μm .

Foto 2. — Embrión McII 92 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 3. — Embrión McII 93 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AI: aurícula izquierda.

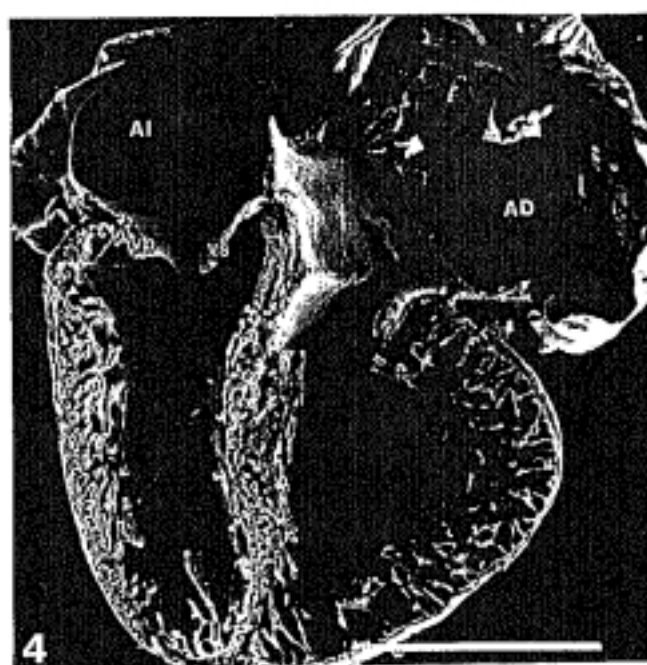
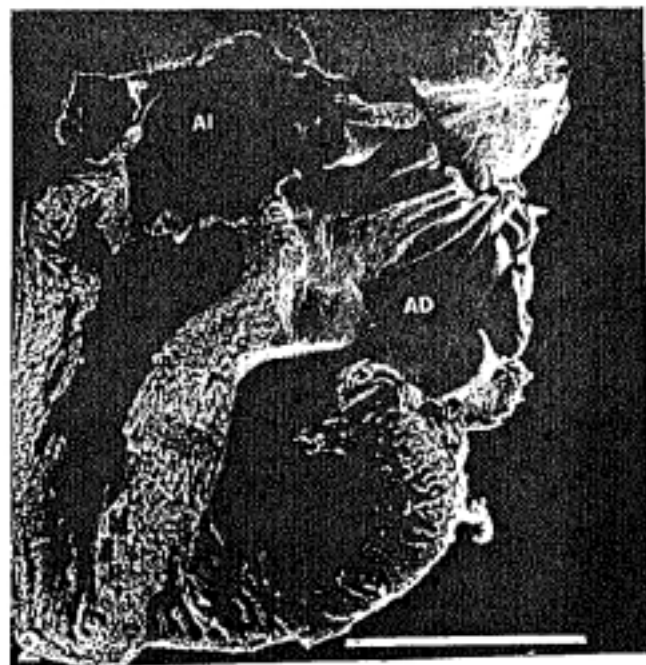
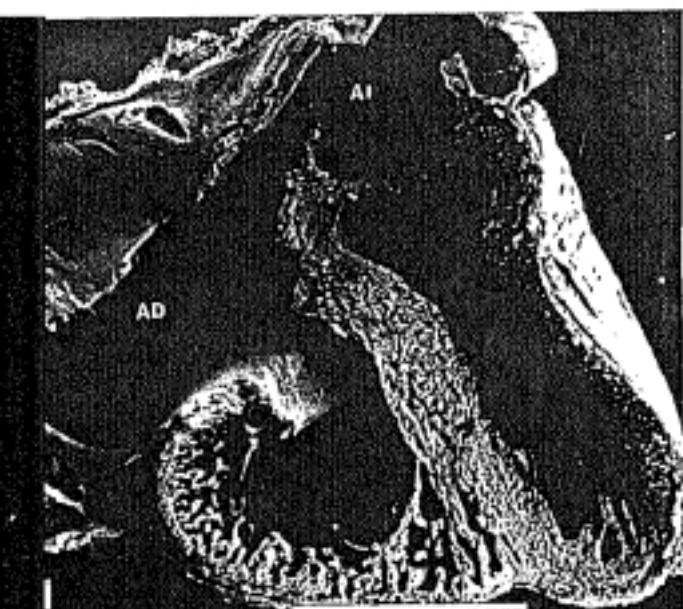
Barra: 1000 μm .

Foto 4. — Embrión McII 93 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda; **vp:** valva parietal;

vs: valva septal.

Barra: 1000 μm .



LAMINA 28.

Foto 1. — Embrión McI 35 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

siv: *septum interventriculare*; **VD:** ventrículo derecho; **VI:** ventrículo izquierdo.

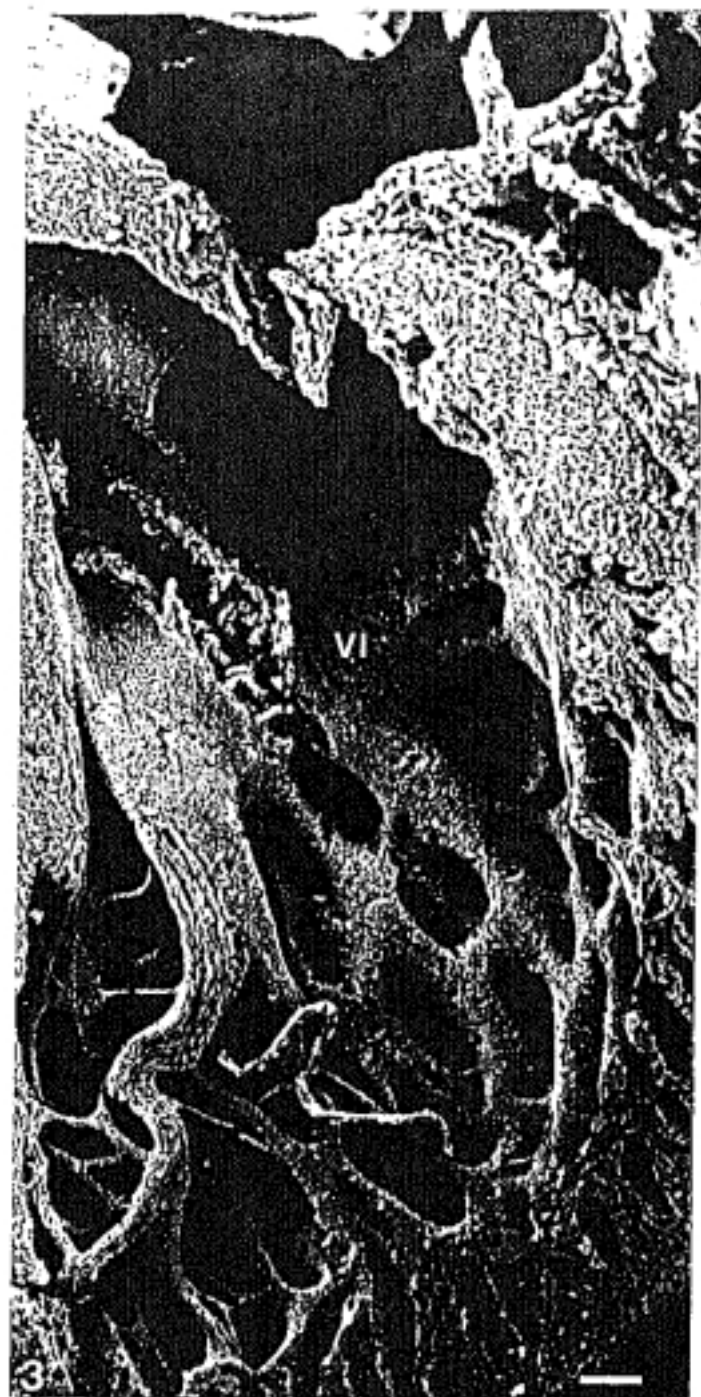
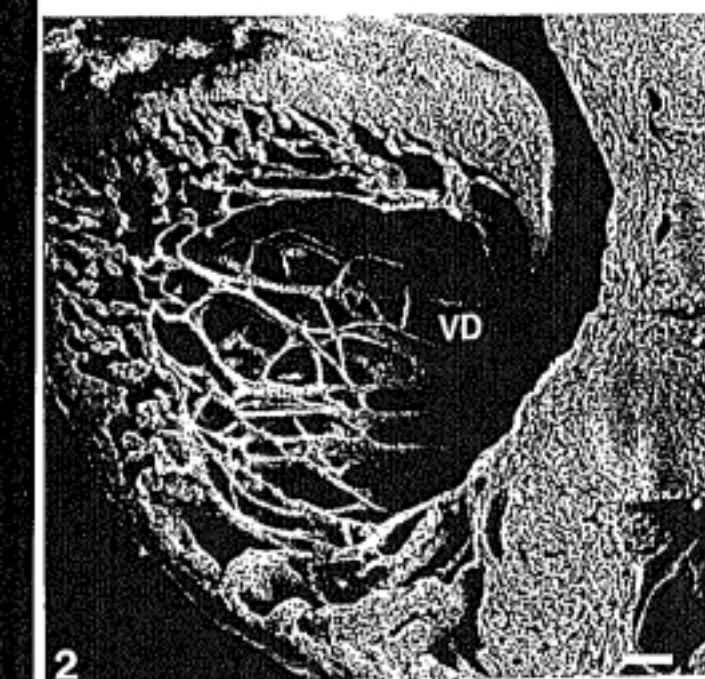
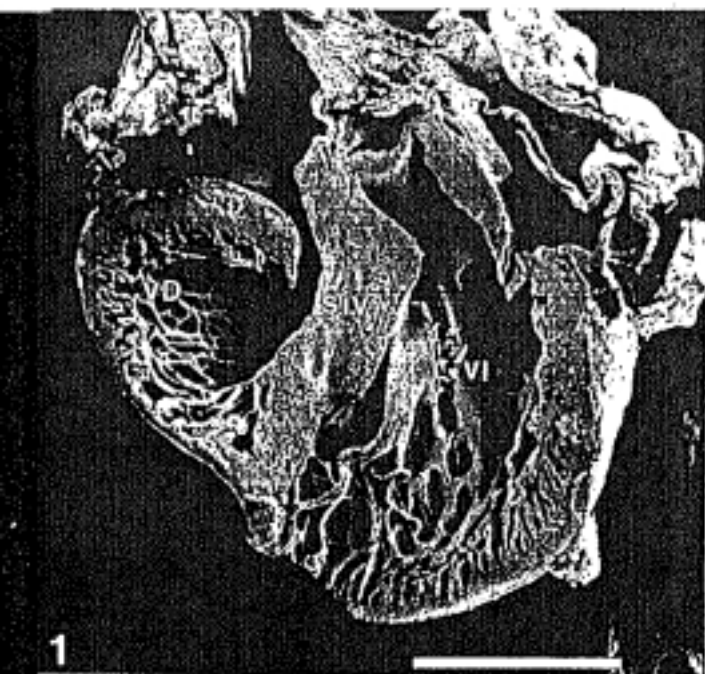
Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Detalle ventrículo derecho de la foto 1.
VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.

Foto 3. — Detalle ventrículo izquierdo de la foto 1.
VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 29.

Foto 1. — Embrión McI 35 (E 35 HH). Sección de una trabécula del ventrículo izquierdo. Nótese la existencia de algunos cordones trabeculares rotos.

ct: cordones trabeculares.

Barra: 100 μ m.

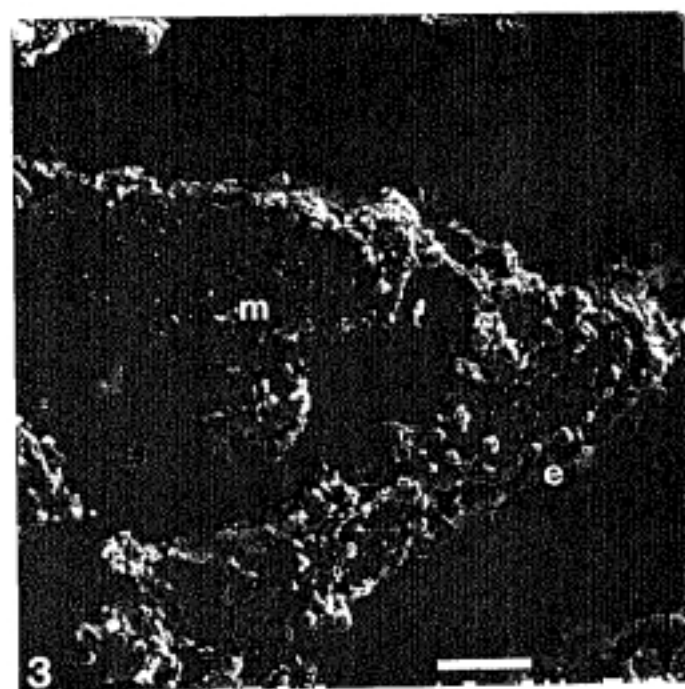
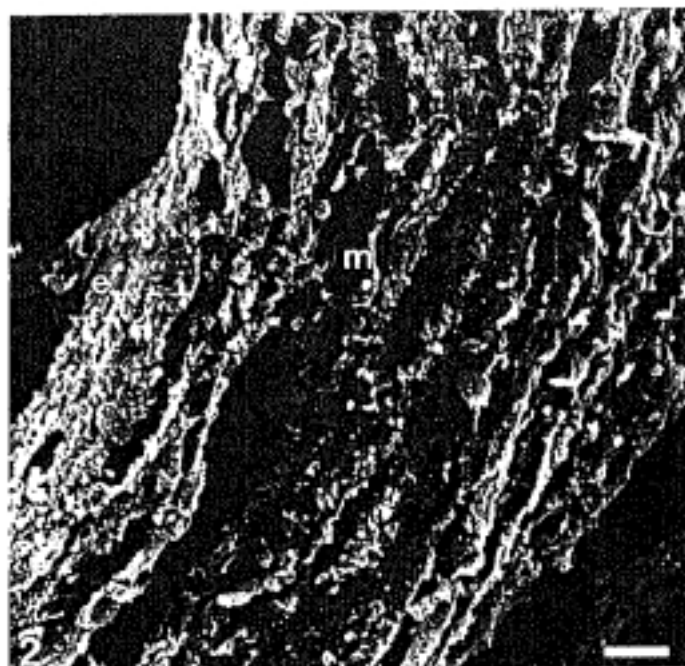
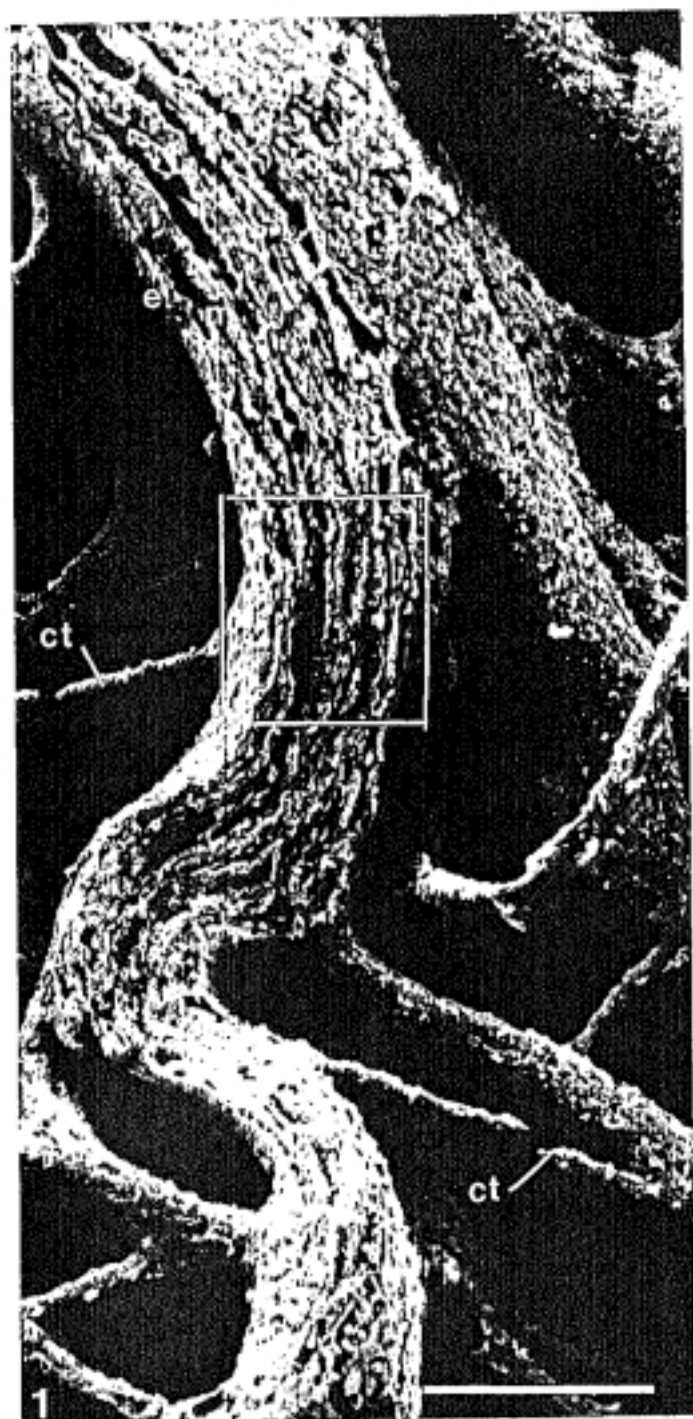
Foto 2. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1.
e: endocardio; m: miocardio.

Barra: 10 μ m.

Foto 3. — Detalle de la sección de una trabécula del ventrículo derecho del embrión McI 35.

e: endocardio; m: miocardio.

Barra: 10 μ m.



II. TESTIGOS DE TIRODE.

De los 83 embriones destinados a este grupo (TABLAS 3, 4 Y 5):

- 15 fueron "procesados para su estudio a microscopía óptica" (→ MO).

- 41 fueron "procesados para su estudio a microscopía electrónica de barrido" (→ MEB).

- 16 "murieron" (+).

- 11 "no fueron considerados" (n.c.) por presentar hemorragia en el momento de la intervención o por morir en el transcurso de los primeros 30 min. tras la intervención.

De los 72 embriones considerados:

- 16 murieron, lo que supone una "mortalidad" del 22'2%.

- 15 presentaron "malformaciones morfológicas externas", lo que supone un 20'8%.

De los 41 → MEB, 23 presentaron "malformaciones cardíacas", lo que supone un 56%.

Hemos seleccionado los corazones más representativos de cada uno de los tres estadios de intervención.

Los hemos denominado "Mt X" ("M" Murillo, "t" tirode y "X" número del embrión).

A continuación vamos a describir los resultados obtenidos en cada uno de los tres estadios de intervención.

1.- Testigos de tirode intervenidos en el E 22 HH.

Han sido intervenidos 34 embriones (TABLA 3) de los que:

- 6 → MO.
- 16 → MEB.
- 8 (+).
- 4 n.c.

a) Mortalidad.

De los 30 embriones considerados, 8 murieron, lo que supone una mortalidad del 26'6%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 30 embriones considerados 8 presentaban malformaciones morfológicas externas (TABLA 18), es decir, un 26'6%.

Los 8 embriones malformados fueron fijados vivos.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes:

- Embrión Mt 33 (E 35 HH) → MO (LAMINA 30: Fotos 1 y 2):

- Extremidades inferiores malformadas.
- Ausencia total de cola.

- Embrión Mt 35 (E teórico 35 HH, E final no determinado a consecuencia de las malformaciones morfológicas externas presentadas) → MO (LAMINA 30: Fotos 7 y 8):

- Exencefalia.
 - Anoftalmía bilateral.
 - Hipoplasia del maxilar.
 - Hipertrofia mandibular.
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mt 37** (E 35 HH) → MO (**LAMINA 30: Fotos 3 y 4**):
- Extremidades inferiores malformadas.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mt 59** (E 35 HH) → MEB:
- Embrión de pequeño tamaño que presenta un retraso general en el desarrollo, sobre todo a nivel de las extremidades; el desarrollo ocular es normal.
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión **Mt 63** (E 35 HH) → MO (**LAMINA 30: Fotos 5 y 6**):
- Retraso en el desarrollo, fundamentalmente a nivel ocular y de extremidades tanto superiores como inferiores.
 - Hipoplasia mandibular.
 - Celosomía tóracoabdominal.
- Embrión **Mt 67** (E 35 HH) → MEB:
- Ausencia total de cola.
- Embrión **Mt 71** (E 35 HH) → MEB:
- Ausencia total de cola.
- Embrión **Mt 82** (E 35 HH) → MEB:
- Ausencia total de cola.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 16 → MEB, 12 presentaron algún tipo de malformación cardíaca lo que supone un 75%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes:

- Embrión Mt 36:

- Retraso en el proceso de trabeculización; se observan numerosos cordones trabeculares en el ventrículo derecho.

- Embrión Mt 59:

- Retraso en el proceso de trabeculización, fundamentalmente en el proceso de compactación, observándose numerosas trabéculas tanto en el ventrículo derecho como en el ventrículo izquierdo.

- Estenosis subpulmonar.

- Embrión Mt 60:

- Retraso en el proceso de trabeculización que afecta a ambos ventrículos, sobre todo en el proceso de compactación.

- Embrión Mt 66:

- Retraso en el proceso de trabeculización que afecta a ambos ventrículos, observándose numerosas trabéculas delgadas y finas.

- Embrión Mt 67 (LAMINA 31: Fotos 1, 2 y 3):

- Retraso en el proceso de trabeculización. Se observa como el infundíbulo pulmonar que debería estar liso, está trabeculado (al igual que el infundíbulo aórtico, experimenta un proceso de remodelación durante el período de trabeculización). La porción muscular que soporta a la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho no presenta la morfología típica del

corazón maduro, siendo las trabéculas delgadas y existiendo amplios espacios intertrabeculares característicos de estadios más jóvenes. En la porción trabeculada del ventrículo derecho existen numerosos cordones trabeculares.

- Embrión Mt 68:

- Retraso en el proceso de trabeculización, sobre todo en el proceso de compactación.

- Embrión Mt 70 (LAMINA 32: Fotos 1 y 2):

- Cardiopatía dilatada del ventrículo derecho. Se aprecia un ventrículo derecho dilatado, en el que la práctica totalidad de las trabéculas se han incorporado a la pared libre ventricular. La morfología del ventrículo izquierdo es normal.

- Embrión Mt 72 (LAMINA 32: Fotos 3 y 4):

- Cardiopatía hipertrófica. Afecta a ambos ventrículos, fundamentalmente al ventrículo izquierdo.

- Embrión Mt 73 (LAMINA 32: Fotos 5 y 6):

- Cardiopatía hipertrófica. Va a afectar principalmente al ventrículo izquierdo, fundamentalmente al *septum interventriculare*. La hipertrofia del *septum interventriculare* da lugar a una estenosis subaórtica.

- Embrión Mt 75:

- Retraso en el proceso de trabeculización, básicamente en la porción muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho y en el infundíbulo pulmonar que está trabeculado.

- Embrión Mt 80 (LAMINA 31: Fotos 4, 5 y 6):

- Retraso en el proceso de trabeculización, principalmente en el proceso de compactación de las trabéculas del ventrículo derecho.

- La cámara de entrada y de salida del ventrículo izquierdo es más extensa de lo normal, invadiendo parte de la zona trabeculada.

- Embrión **Mt 83**:

- Retraso en el proceso de trabeculización a nivel de la porción muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho que presenta un aspecto propio de estadios más jóvenes, y del infundíbulo pulmonar que se observa trabeculado.

A la vista de estos resultados podemos agrupar las malformaciones cardíacas en tres grupos generales obteniendo la **TABLA 19**.

TABLA 18.

**MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS TES-
TIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN
EL ESTADIO 22 HH.**

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mt 33	-	-	-	-	-	-	*	-	-	*
Mt 35	*	*	*	*	*	-	-	*	*	*
Mt 37	-	-	-	-	-	-	*	-	-	*
Mt 59	-	-	-	-	-	*	*	-	-	*
Mt 63	-	*	*	-	*	*	*	*	*	-
Mt 67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mt 71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mt 82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 19.

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS TESTIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 22 HH

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mt 36	*	-	-
Mt 59	*	-	-
Mt 60	*	-	-
Mt 66	*	-	-
Mt 67	*	-	-
Mt 68	*	-	-
Mt 70	-	*	-
Mt 72	-	-	*
Mt 73	-	-	*
Mt 75	*	-	-
Mt 80	*	-	-
Mt 83	*	-	-

LAMINA 30.

Foto 1. — Embrión Mt 33 (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 8.

Foto 2. — Embrión Mt 33 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 8.

Foto 3. — Embrión Mt 37 (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 8.

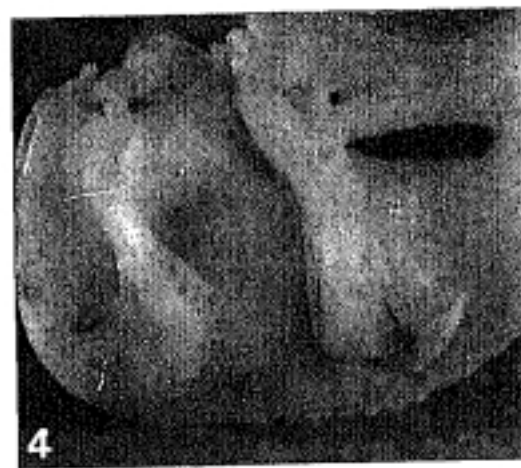
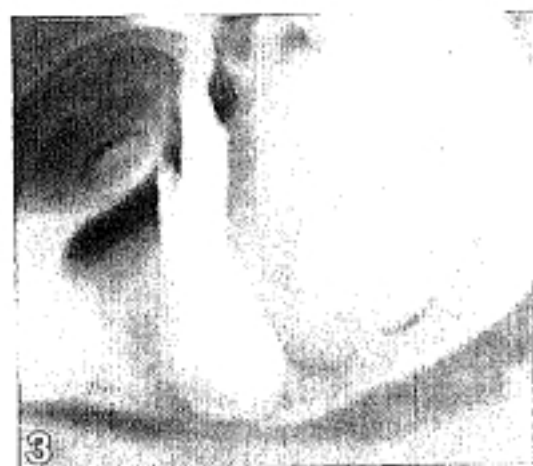
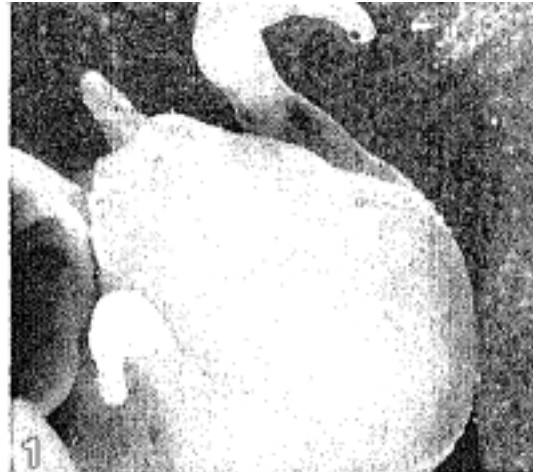
Foto 4. — Embrión Mt 37 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 8.

Foto 5. — Embrión Mt 63 (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 8.

Foto 6. — Embrión Mt 63 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 8.

Foto 7. — Embrión Mt 35 (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 6'3.

Foto 8. — Embrión Mt 35 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 6'3.



LAMINA 31.

Foto 1.— Embrión **Mt 67** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 2.— Embrión **Mt 67** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 3.— Detalle del ventrículo derecho de la foto 2. Nótese la presencia de cordones trabeculares rotos (Puntas de flecha).

VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μm .

Foto 4.— Embrión **Mt 80** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

Barra: 1000 μm .

Foto 5.— Detalle ventrículo derecho de la foto 4.

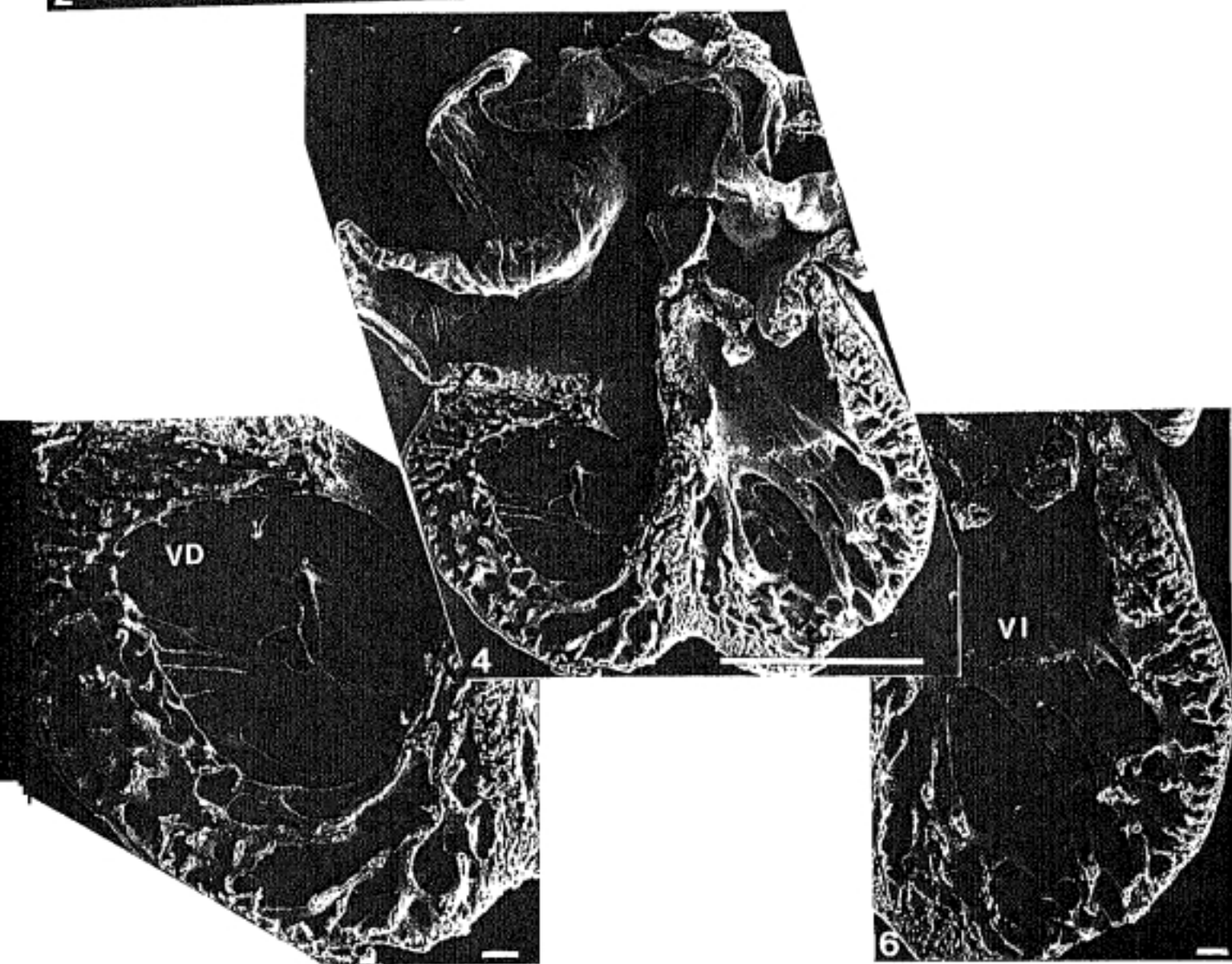
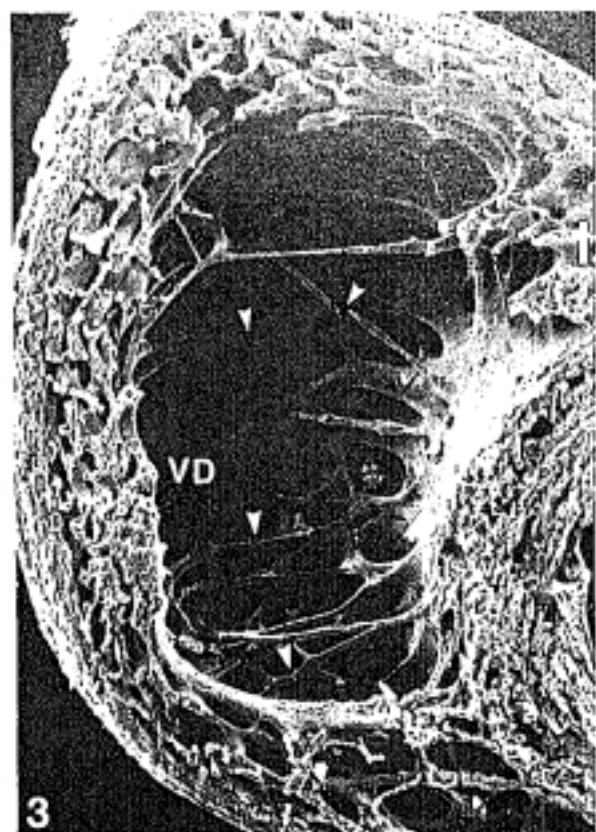
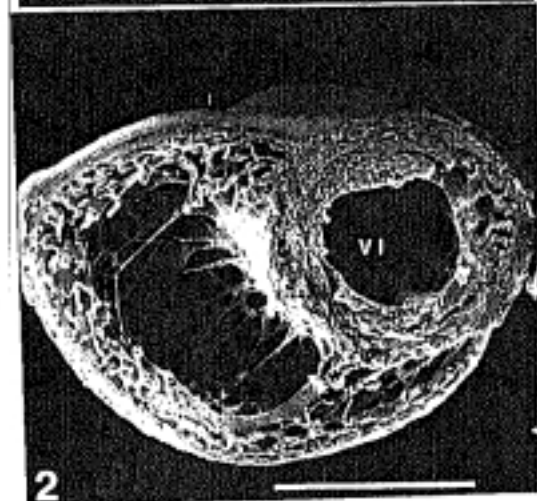
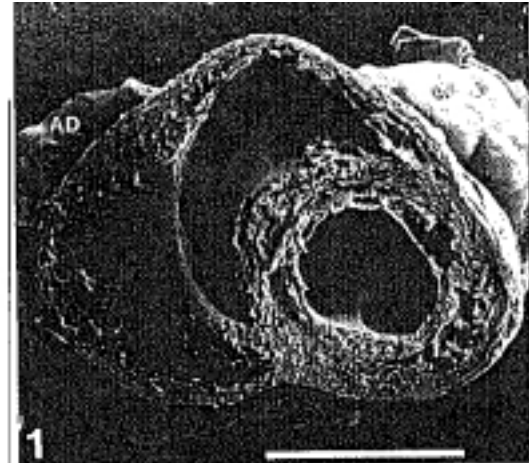
VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μm .

Foto 6.— Detalle ventrículo izquierdo de la foto 4.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μm .



LAMINA 32 .

Foto 1 .— Embrión **Mt 70** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

VD: ventrículo derecho.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 .— Detalle ventrículo derecho de la foto 1.

Barra: 100 μm .

Foto 3 .— Embrión **Mt 72** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

Barra: 1000 μm .

Foto 4 .— Embrión **Mt 72** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

Barra: 1000 μm .

Foto 5 .— Embrión **Mt 73** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Estenosis subaórtica (Punta de flecha).

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

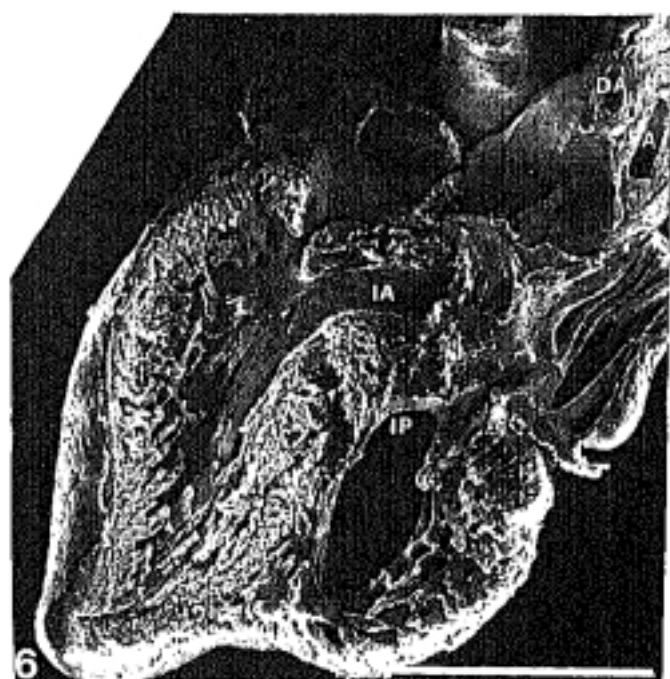
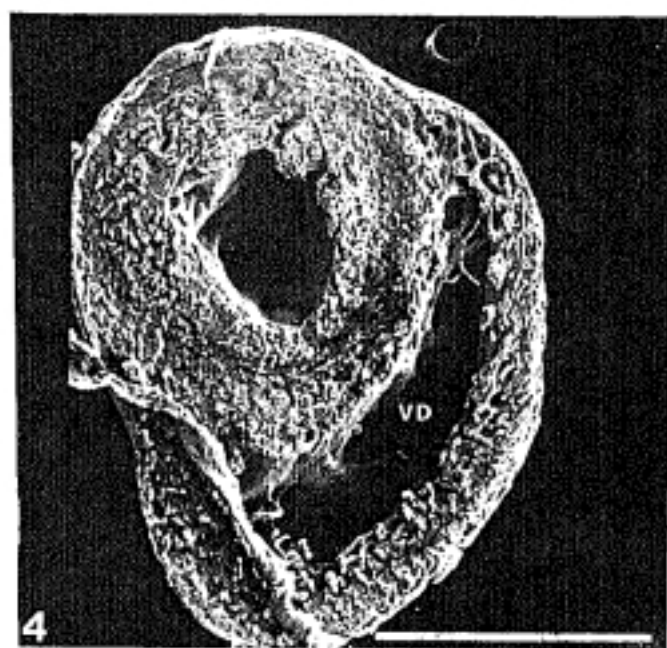
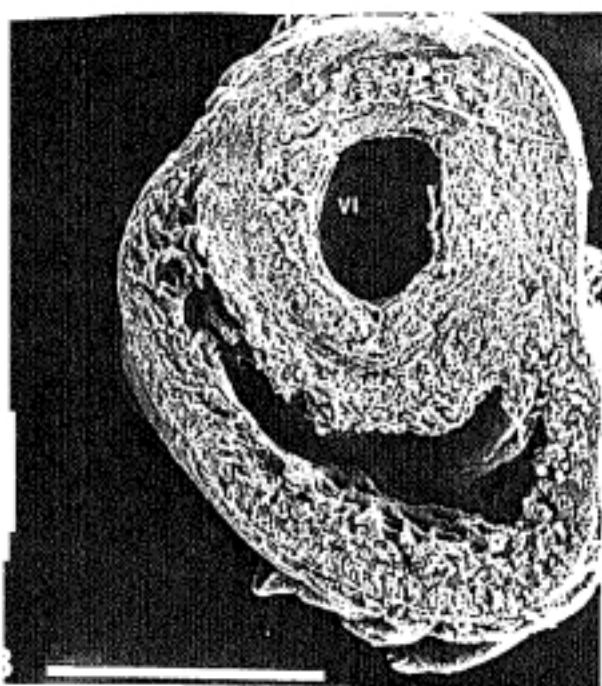
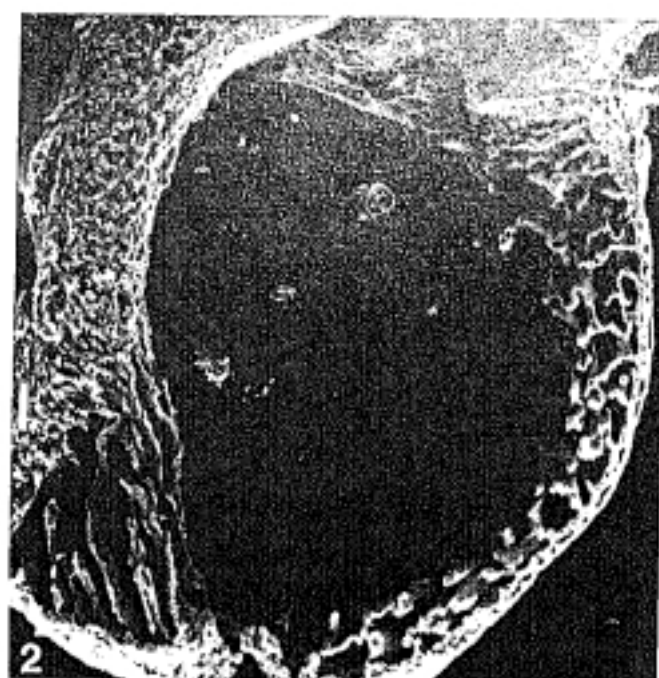
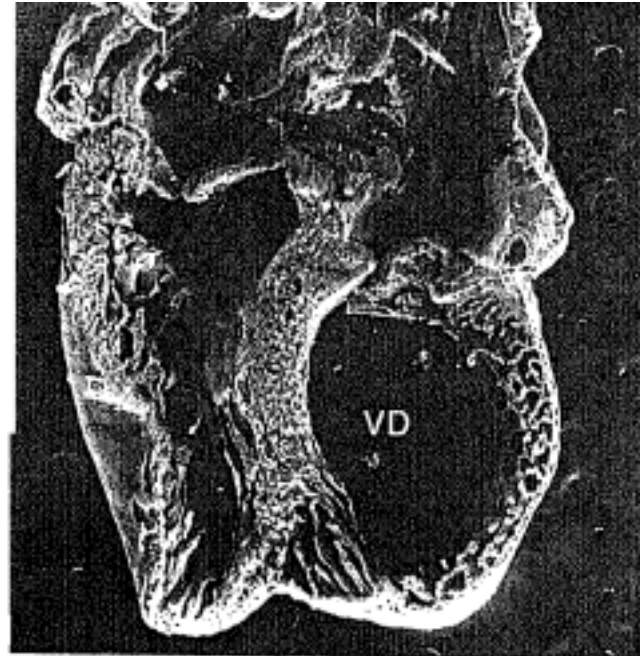
Barra: 1000 μm .

Foto 6 .— Embrión **Mt 73** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

A: arteria aorta; **DA:** ductus arteriosus; **IA:** infundíbulo aórtico;

IP: infundíbulo pulmonar; **P:** arteria pulmonar.

Barra: 1000 μm .



2.- Testigos de tirode intervenidos en el E 25 HH.

Han sido intervenidos 28 embriones (TABLA 4) de los que:

- 5 → MO.
- 14 → MEB.
- 3 (+).
- 6 n.c.

a) Mortalidad.

De los 22 embriones considerados, 3 murieron, lo que supone una mortalidad del 13'6%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 22 embriones considerados 6 presentaban malformaciones morfológicas externas, es decir, un 27'2%.

De estos 6 embriones malformados fueron fijados vivos 3.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 20):

- Embrión Mt 5 (E 35 HH) → MO:
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión Mt 7 (+):
 - Celosomía abdominal.
 - Tumoración localizada en la base de implantación mandibular.

- Embrión **Mt 10 (+)**:
 - Celosomía abdominal.
 - Tumoración localizada en la base de implantación mandibular.

- Embrión **Mt 11 (E 35 HH)** → MEB:

- Ausencia total de cola.

- Embrión **Mt 12 (E 35+ HH)** → MEB:

- Ausencia total de cola.

- Embrión **Mt 16 (+)**:

- Extremidades inferiores fusionadas.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 14 → MEB, 6 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 42'8%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 21):

- Embrión **Mt 8 (LAMINA 34: Foto 5)**:

- Hipertrofia del *septum interventriculare* asociada a estenosis subaórtica.

- Embrión **Mt 11**:

- Espacios intertrabeculares en el espesor del *septum interventriculare* por un retraso en el proceso de coalescencia de las trabéculas que constituyen el *septum*.

- Estenosis subaórtica

- Embrión **Mt 14**:

- Ventrículo izquierdo dilatado en el que la práctica totalidad de las trabéculas se han incorporado a la pared ventricular.

- Embrión Mt 19:

- Cardiopatía hipertrófica que afecta a ambos ventrículos.

- Embrión Mt 22 (LAMINA 34: Fotos 1, 2, 3 y 4):

- Cardiopatía hipertrófica que afecta a ambos ventrículos. En el ventrículo izquierdo existe una mayor afectación de las paredes septal y libre que del ápex.

- Embrión Mt 24 (LAMINA 33: Fotos 1, 2 y 3):

- Retraso en el proceso de trabeculización, básicamente en el proceso de compactación, observándose numerosas trabéculas delgadas en ambos ventrículos, al igual que una fina red superficial de cordones trabeculares.

TABLA 20.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS TES-
TIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN
EL ESTADIO 25 HH.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mt 5	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
Mt 7	-	-	-	-	*	-	-	-	*	-
Mt 10	-	-	-	-	*	-	-	-	*	-
Mt 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mt 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mt 16	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 21.

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS TESTIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 25 HH

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mt 8	-	-	*
Mt 11	-	-	*
Mt 14	-	*	-
Mt 19	-	-	*
Mt 22	-	-	*
Mt 24	*	-	-

LAMINA 33 .

Foto 1 . — Embrión **Mt 24** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2 . — Embrión **Mt 24** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

A: arteria aorta; **AD:** aurícula derecha; **IA:** infundíbulo aórtico;

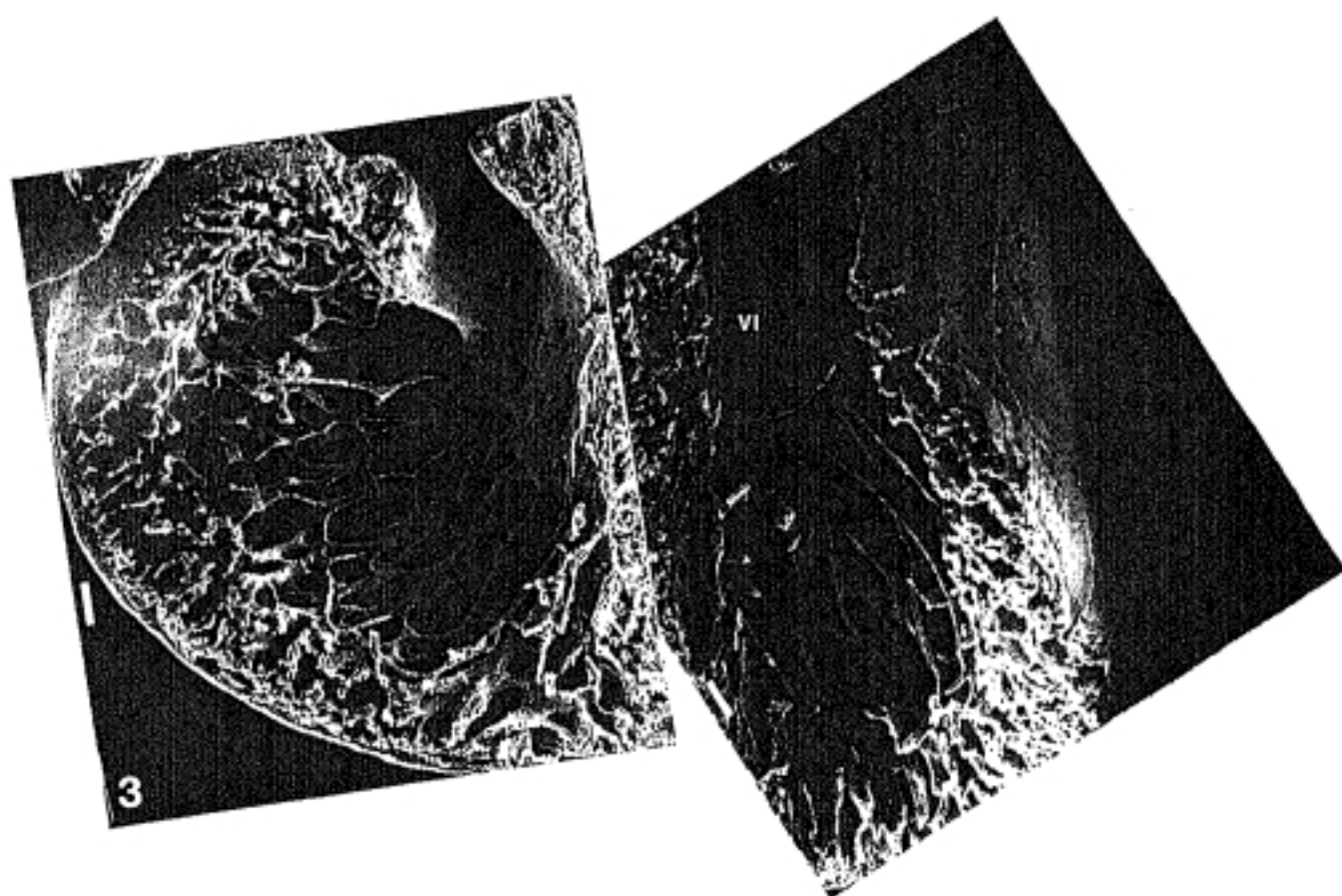
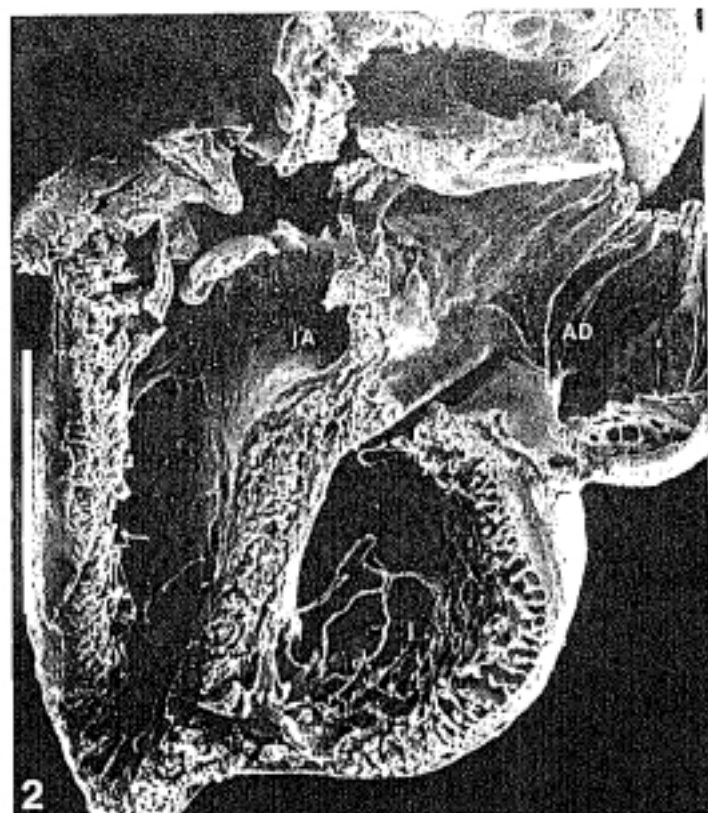
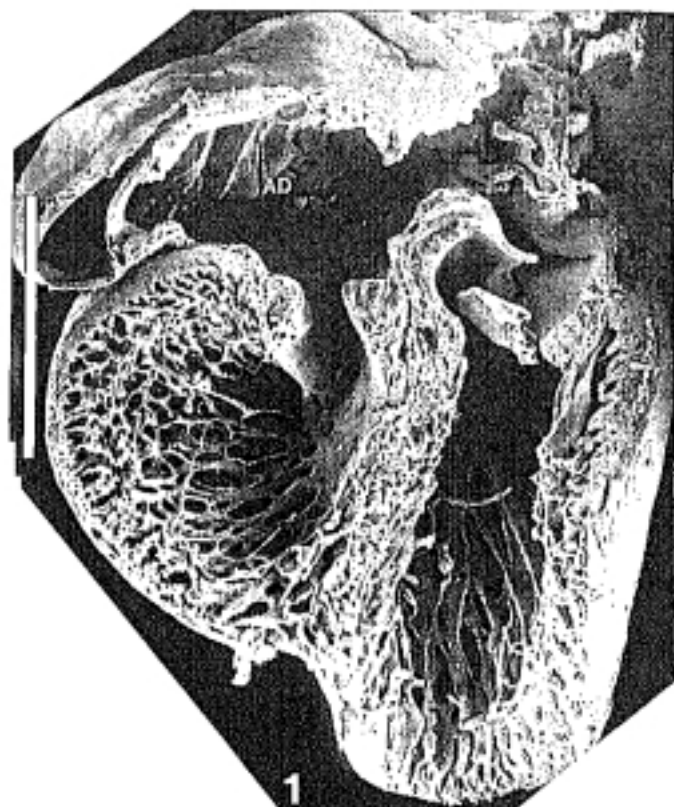
P: arteria pulmonar.

Barra: 1000 μ .

Foto 3 . — Detalle de ambos ventrículos observados en la foto 1.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.



LAMINA 34 .

Foto 1 . — Embrión Mt 22 (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2 . — Embrión Mt 22 (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3 . — Detalle ventrículo izquierdo de la foto 1. Vaso coronario del *septum interventriculare* (Asterisco).

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 4 . — Detalle del ventrículo izquierdo de la foto 2. Coronaria interventricular septal (Asterisco).

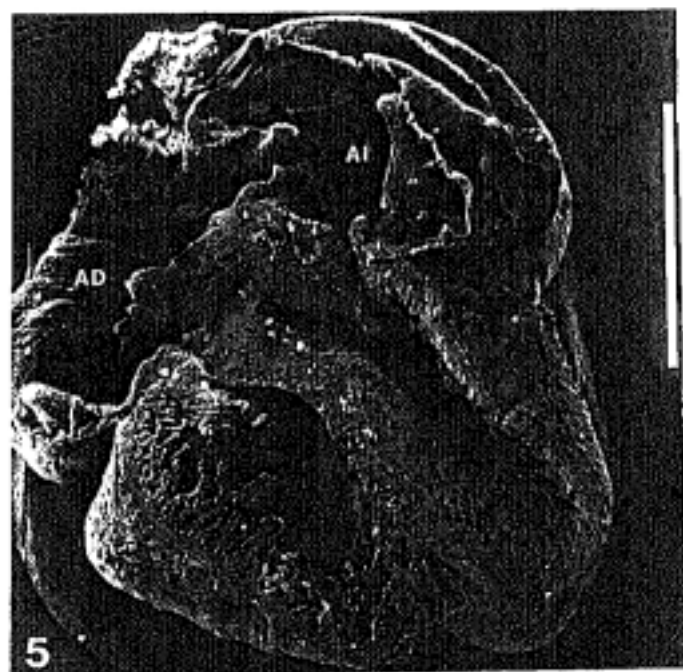
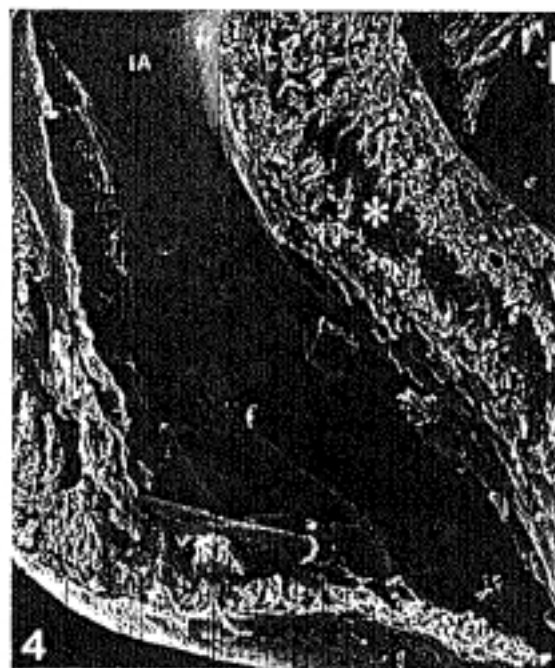
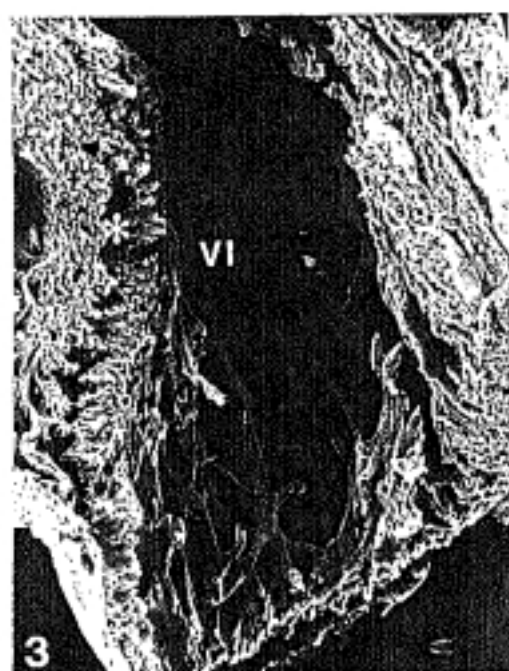
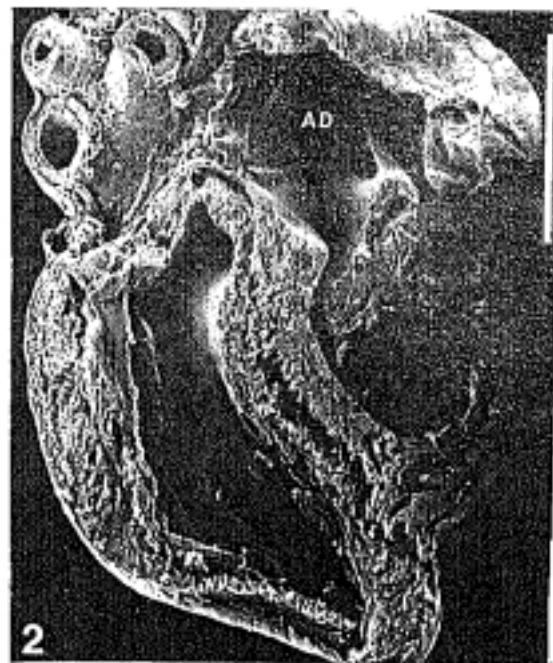
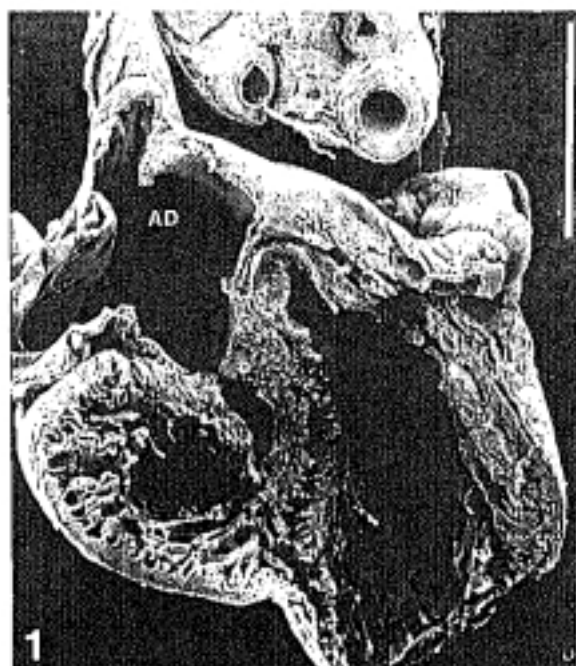
IA: infundíbulo aórtico.

Barra: 100 μ m.

Foto 5 . — Embrión Mt 8 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.



3.- Testigos de tirode intervenidos en el E 29 HH.

Han sido intervenidos 21 embriones (TABLA 5) de los que:

- 4 → MO.
- 11 → MEB.
- 5 (+).
- 1 n.c.

a) Mortalidad.

De los 20 embriones considerados, 5 murieron, lo que supone una mortalidad del 25%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 20 embriones considerados sólo el embrión **Mt 45** presentaba malformaciones morfológicas externas (TABLA 22), lo que supone un 5%. Fue fijado vivo y procesado para su estudio MEB. Presentaba un síndrome de cola corta marcado.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 11 → MEB, 5 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 45%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 23):

- Embrión Mt 2 (LAMINA 35: Fotos 1, 2 y 3)

- Cardiopatía hipertrófica que afecta a ambos ventrículos, por un acentuado proceso de compactación. El ventrículo derecho presenta un patrón trabecular totalmente desorganizado, sin ningún tipo de orientación aparente. El ventrículo izquierdo no presenta la desorganización del ventrículo derecho. Por el contrario, existen trabéculas finas y trabéculas transversales.

- Estenosis subaórtica.

- Embrión Mt 39 (LAMINA 36: Fotos 1 y 2):

- Cardiopatía hipertrófica. Afecta principalmente al ventrículo izquierdo, tanto a su pared libre como a su pared septal. Las trabéculas del ventrículo derecho se observan algo engrosadas.

- Embrión Mt 40 (LAMINA 35: Fotos 4 y 5):

- Cardiopatía hipertrófica de las paredes libre y septal del ventrículo izquierdo. Nótese en la foto 5 la hipertrofia del músculo papilar anterior.

- Embrión Mt 45 (LAMINA 36: Fotos 3 y 4):

- Retraso en el proceso de trabeculización, fundamentalmente en los procesos de remodelación y de compactación trabecular. Así, se observa en el ventrículo derecho una red superficial de cordones trabeculares. En ambos ventrículos nos encontramos con numerosas trabéculas que deberían haberse incorporado a las paredes ventriculares.

- En el *septum interventriculare* se aprecian numerosos espacios intertrabeculares por un retraso en el proceso de compactación.

- Embrión Mt 47 (LAMINA 36: Fotos 5 y 6):

- Cardiopatía hipertrófica. Apenas se observan trabéculas en el ventrículo derecho. La práctica totalidad se han incorporado a la pared ventricular.

- La porción muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho se observa compacta, apenas existen espacios intertrabeculares.

- El infundíbulo pulmonar se observa trabeculado.

TABLA 22 .

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX- TERNAS PRESENTADAS POR LOS TES- TIGOS DE TIRODE INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 29 HH .

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mt 45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; **Mx.**: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; **Trx.**: tórax; **Abd.**: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 23 .

**MALFORMACIONES CARDIACAS PRESEN-
TADAS POR LOS TESTIGOS DE TIRODE
INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 29 HH**

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mt 2	-	-	*
Mt 39	-	-	*
Mt 40	-	-	*
Mt 45	*	-	-
Mt 47	-	-	*

LAMINA 35.

Foto 1. — Embrión Mt 2 (E 35+ HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Infundíbulo aórtico estenosado (Punta de flecha).

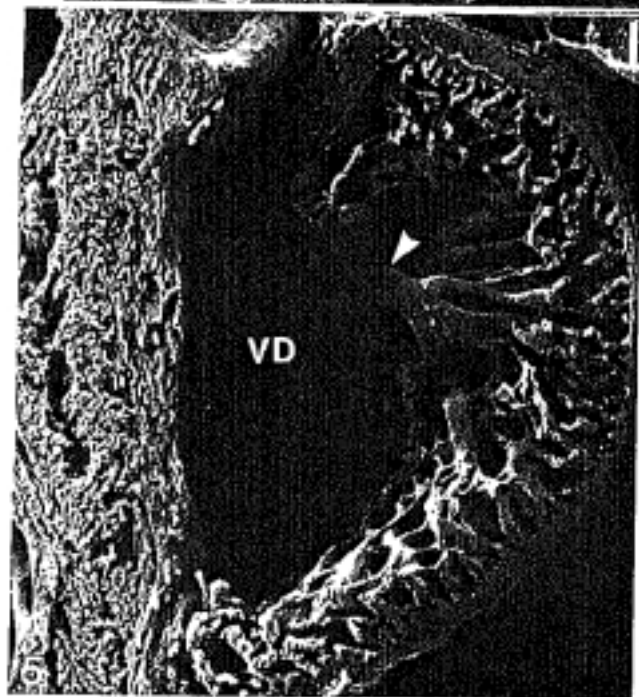
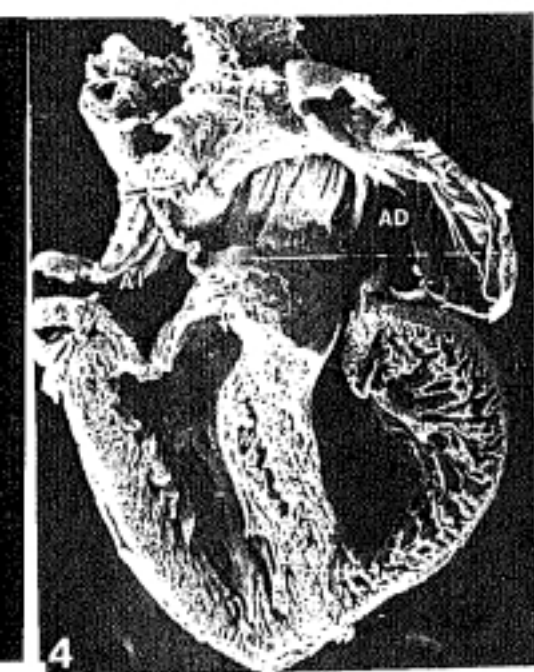
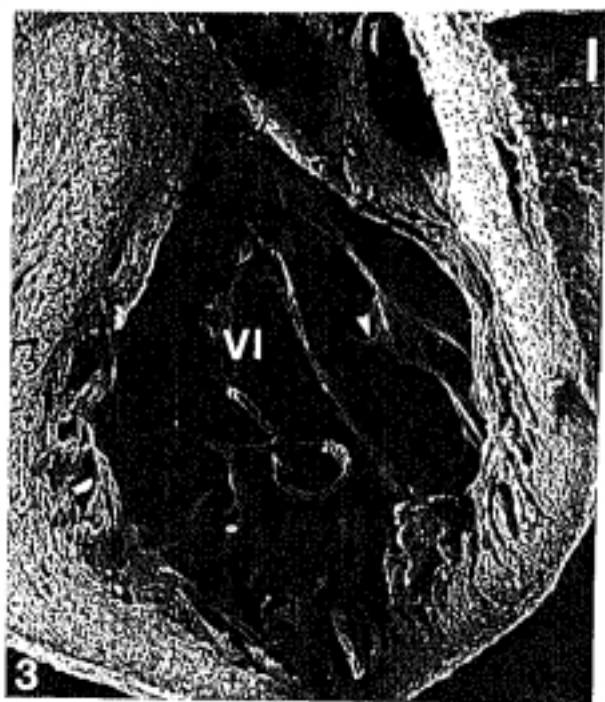
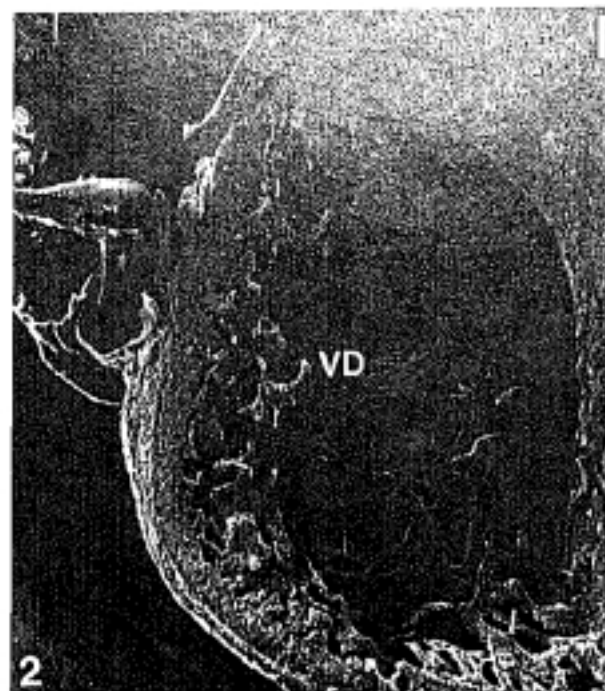
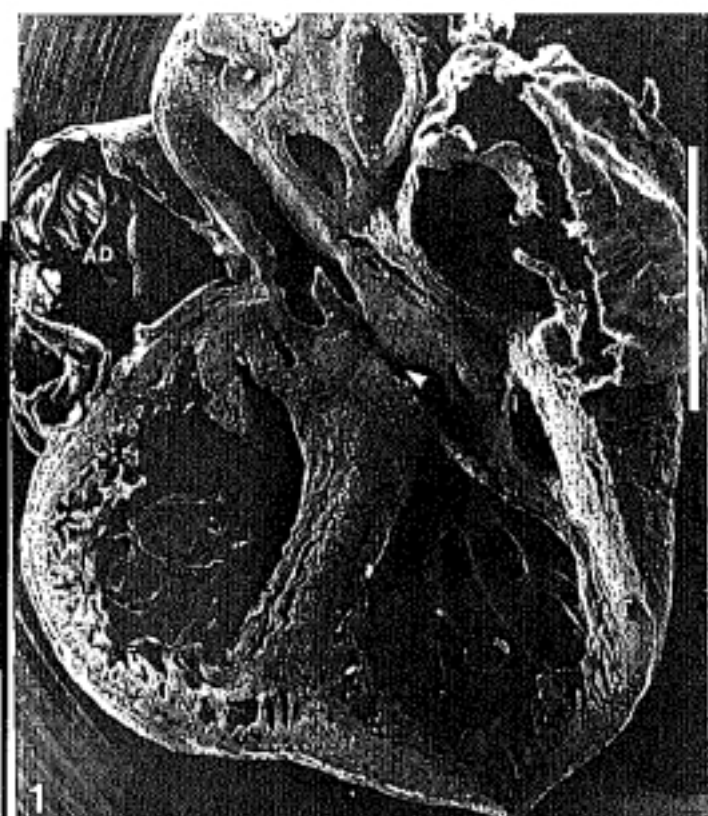
A: arteria aorta; **AD:** aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.
Barra: 1000 μm .

Foto 2. — Detalle ventrículo derecho de la foto 1.
VD: ventrículo derecho.
Barra: 100 μm .

Foto 3. — Detalle del ventrículo izquierdo de la foto 1. Trabécula transversal (Punta de flecha).
VI: ventrículo izquierdo.
Barra: 100 μm .

Foto 4. — Embrión Mt 40 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal. Coronaria interventricular septal (Asterisco).
AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.
Barra: 1000 μm .

Foto 5. — Detalle del ventrículo derecho de la foto 4. Músculo papilar hipertrofiado (Punta de flecha).
VD: ventrículo derecho.
Barra: 100 μm .



LAMINA 36 .

Foto 1 .— Embrión Mt 39 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2 .— Embrión Mt 39 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3 .— Embrión Mt 45 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μ m.

Foto 4 .— Embrión Mt 45 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

Barra: 1000 μ m.

Foto 5 .— Embrión Mt 47 (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

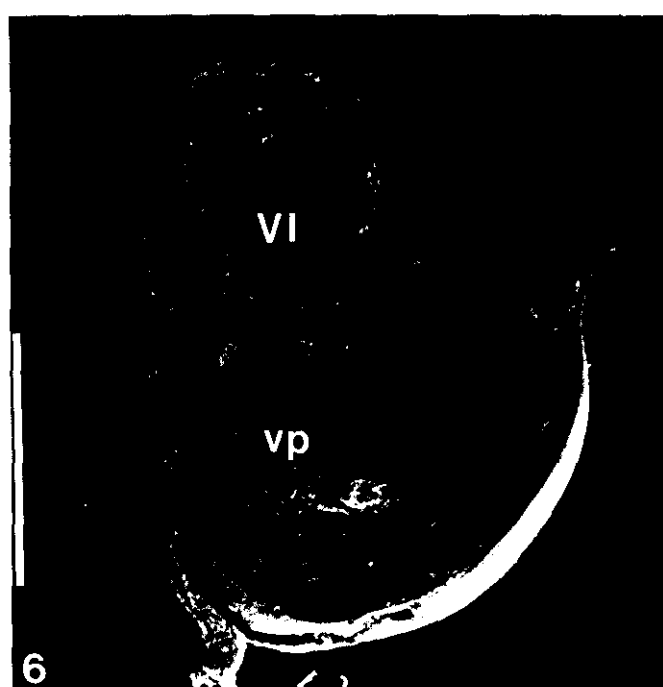
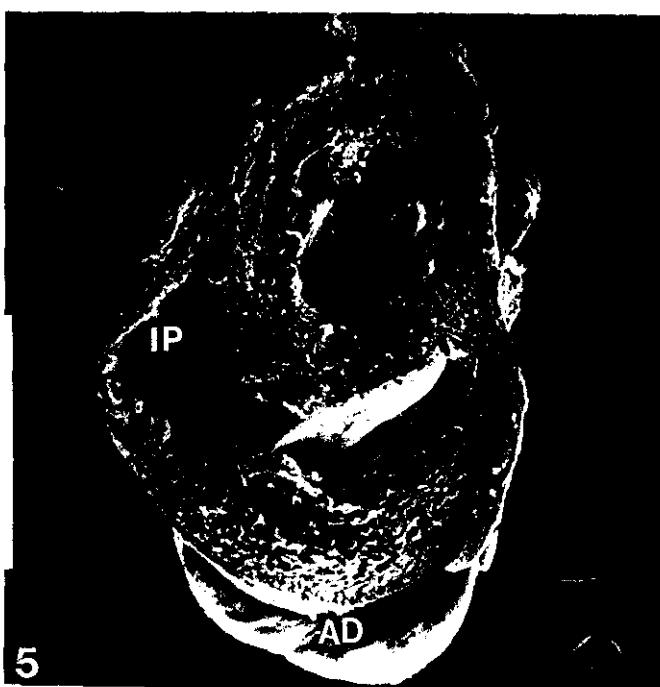
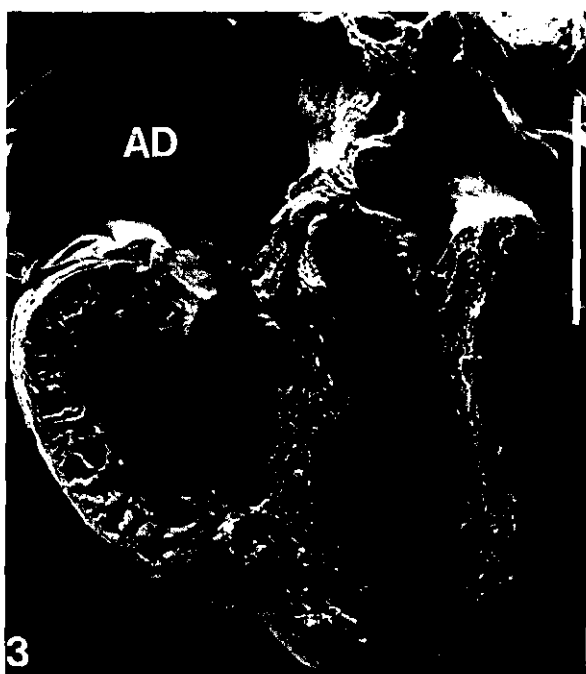
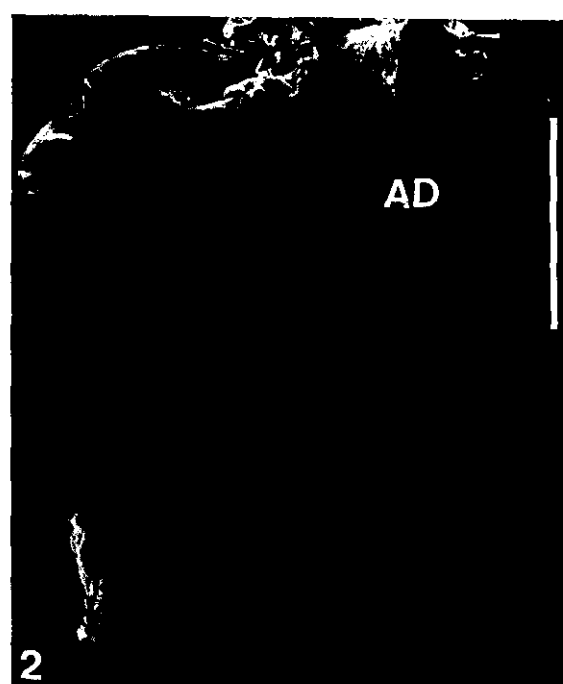
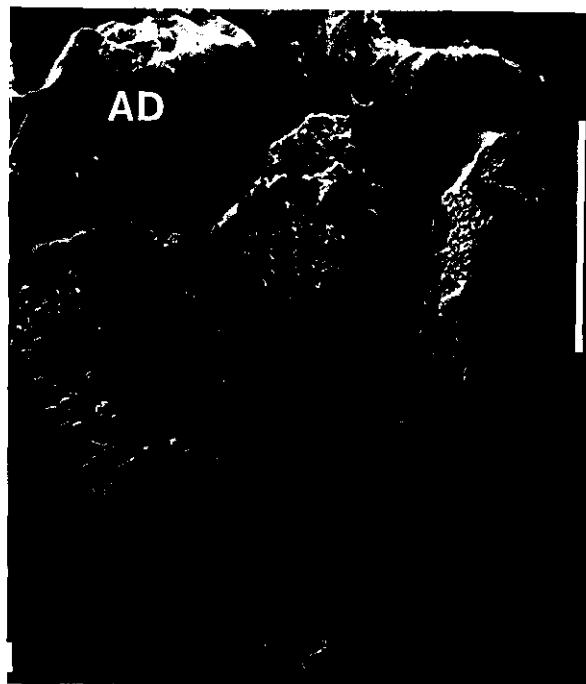
AD: aurícula derecha; IP: infundíbulo pulmonar; vs: valva septal.

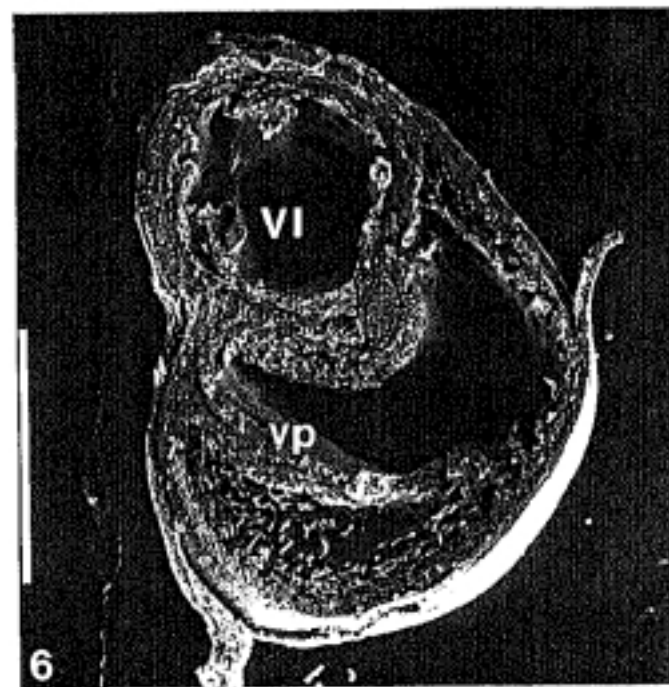
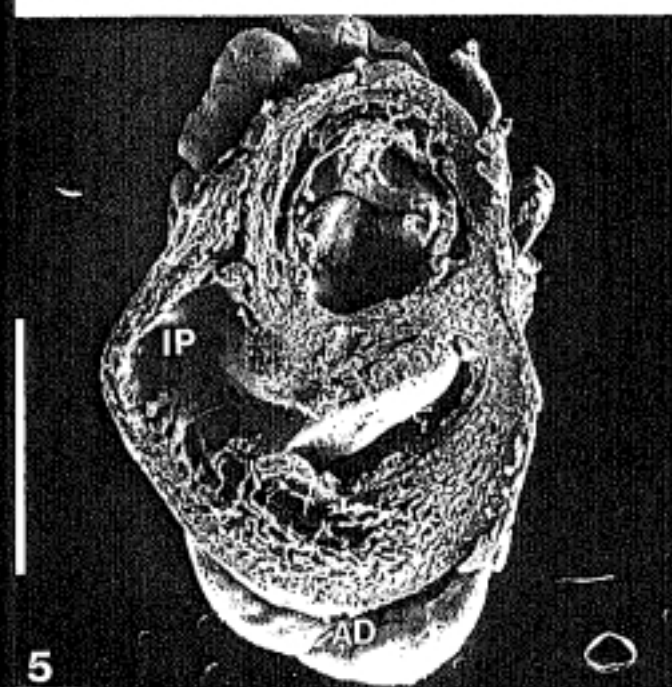
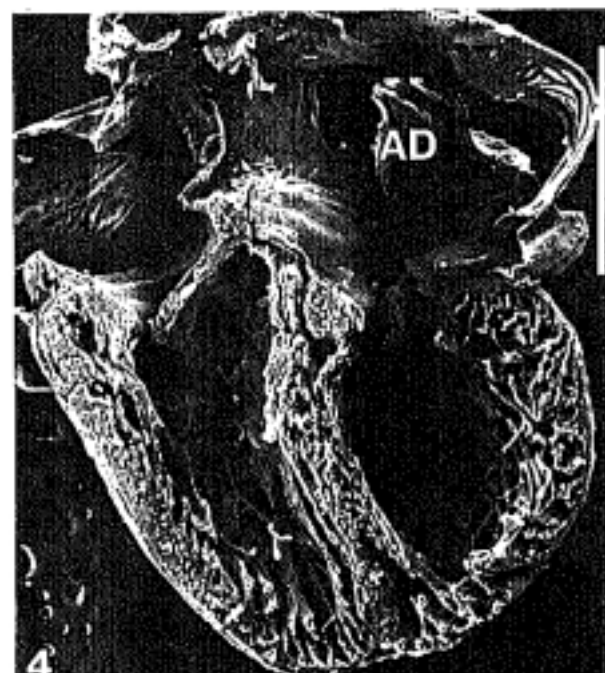
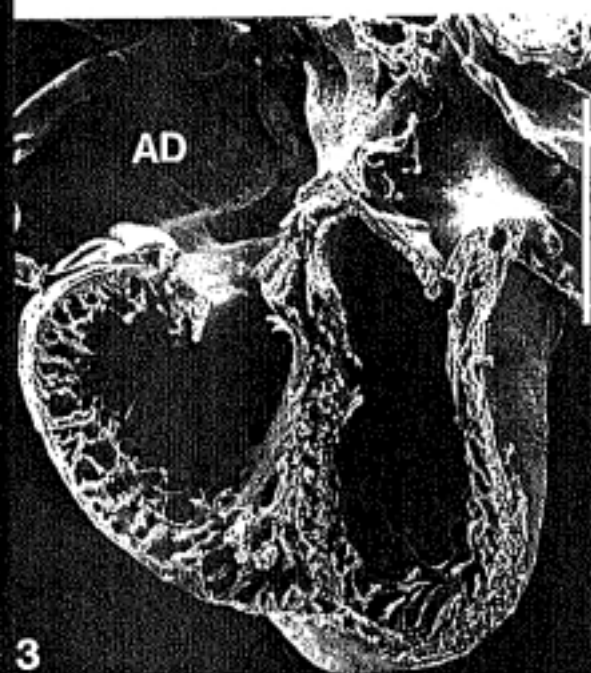
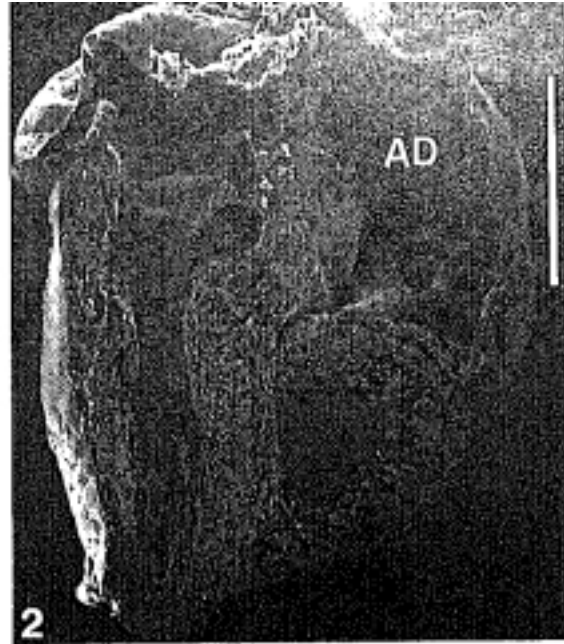
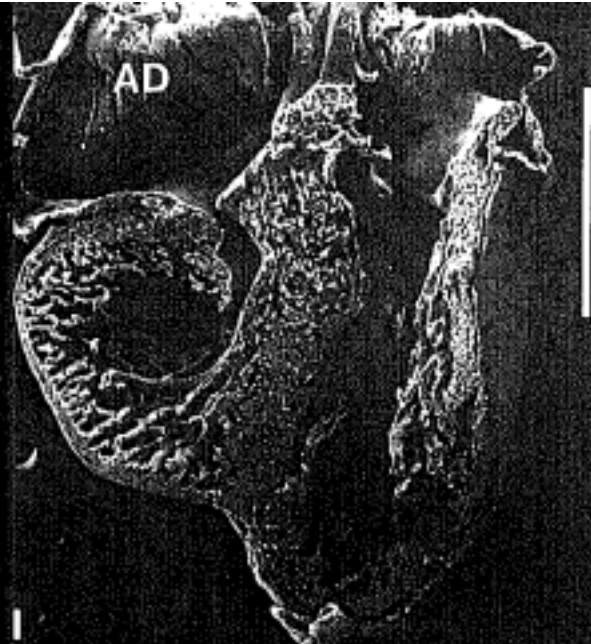
Barra: 1000 μ m.

Foto 6 .— Embrión Mt 47 (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

VI: nentrículo izquierdo; vp: valva parietal.

Barra: 1000 μ m.





III. TESTIGOS DE HEPARINA

De los 113 embriones destinados a este grupo (TABLAS 6, 7 y 8):

- 15 fueron "procesados para su estudio a microscopía óptica" (→ MO).

- 44 fueron "procesados para su estudio a microscopía electrónica de barrido" (→ MEB).

- 33 "murieron" (+).

- 21 "no fueron considerados" (n.c.) por presentar hemorragia en el momento de la intervención o por morir en el transcurso de los primeros 30 min. tras la intervención.

De los 92 embriones considerados:

- 33 murieron, lo que supone una "mortalidad" del 35'8%.

- 10 presentaron "malformaciones morfológicas externas", lo que supone un 10'8%.

De los 44 → MEB, 20 presentaron "malformaciones cardíacas", lo que supone un 45'4%.

Hemos seleccionado los corazones más representativos de cada uno de los tres estadios de intervención.

Los hemos denominado "Mh X" ("M" Murillo, "h" heparina y "X" número del embrión).

A continuación vamos a describir los resultados obtenidos en cada uno de los tres estadios de intervención.

1.- Testigos de heparina intervenidos en el E 22 HH.

Han sido intervenidos 48 embriones (TABLA 6) de los que:

- 5 → MO.
- 18 → MEB.
- 17 (+).
- 8 n.c.

a) Mortalidad.

De los 40 embriones considerados, 17 murieron, lo que supone una mortalidad del 42'5%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 40 embriones considerados 3 p r e s e n t a b a n malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 7'5%.

De estos 3 embriones malformados fueron fijados vivos 1.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 24):

- Embrión Mh 83 (+):
 - Celosomía tóracoabdominal.
- Embrión Mh 85 (+):
 - Celosomía tóracoabdominal.
- Embrión Mh 87 (E 35 HH) → MO:
 - Hipoplasia del pico.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 18 → MEB, 9 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 50%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 25):

- Embrión Mh 94 (LAMINA 37: Fotos 1 y 2):

- Retraso en el proceso de trabeculización. Nótese la falta de madurez en las trabéculas del ventrículo izquierdo. Destaca también lo trabeculado que está el *septum interventriculare* por su lado derecho por un retraso en el proceso de compactación

- En la foto 2 de la lámina 36 se observa una invaginación en el infundíbulo aórtico por un retraso en su proceso de remodelación.

- Embrión Mh 95 (LAMINA 37: Fotos 3, 4 y 5):

- Retraso en el proceso de trabeculización, especialmente en el de remodelación del infundíbulo aórtico.

- Embrión Mh 96 (LAMINA 37: Foto 6):

- Retraso en el proceso de trabeculización, especialmente en el proceso de compactación trabecular.

- Embrión Mh 100 (LAMINA 37: Foto 7):

- Retraso en el proceso de trabeculización a nivel del proceso de compactación trabecular.

- Embrión Mh 101:

- Retraso en el proceso de trabeculización: retraso en la remodelación del infundíbulo pulmonar que aparece trabeculado, así como en los procesos de trabeculización de ambos ventrículos.

- Embrión Mh 103 (LAMINA 38: Fotos 1 y 2):

- Cardiopatía hipertrófica del ventrículo izquierdo.

- Embrión Mh 104:

- Cardiopatía hipertrófica de ambos ventrículos.

- Embrión Mh 106 (LAMINA 38: Fotos 3 y 4):

- Retraso en el proceso de trabeculización, fundamentalmente a nivel de la porción muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho, y en el infundíbulo pulmonar que aparece trabeculado.

- Embrión Mh 108 (LAMINA 38: Fotos 5 y 6):

- Retraso en el proceso de trabeculización: se ha producido un trastorno tanto en la remodelación del infundíbulo pulmonar, que aparece trabeculado, así como en el de la porción muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho.

TABLA 24.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS TES-
TIGOS DE HEPARINA INTERVENIDOS
EN EL ESTADIO 22 HH.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mh 83	-	-	-	-	-	-	-	*	*	-
Mh 85	-	-	-	-	-	-	-	*	*	-
Mh 87	-	-	-	*	*	-	-	-	-	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 25 .

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS TESTIGOS DE HEPARINA INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 22 HH .

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mh 94	*	-	-
Mh 95	*	-	-
Mh 96	*	-	-
Mh 100	*	-	-
Mh 101	*	-	-
Mh 103	-	-	*
Mh 104	-	-	*
Mh 106	*	-	-
Mh 108	*	-	-

LAMINA 37 .

Foto 1 . — Embrión **Mh 94** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1.
IA: infundíbulo aórtico.

Barra: 100 μm .

Foto 3 . — Embrión **Mh 95** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 4 . — Detalle de la pared posterior del infundíbulo aórtico de la foto 3.

IA: infundíbulo aórtico; **VI:** ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μm .

Foto 5 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 4.
Barra: 10 μm .

Foto 6 . — Embrión **Mh 96** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

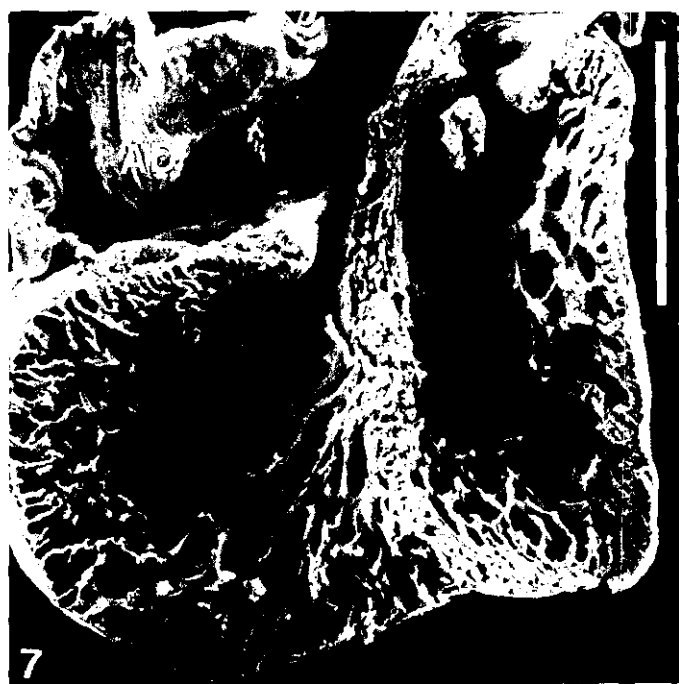
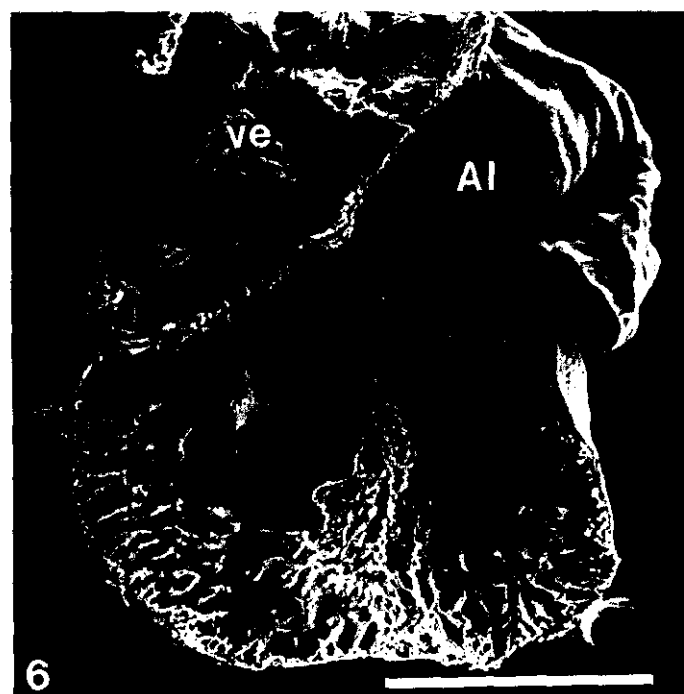
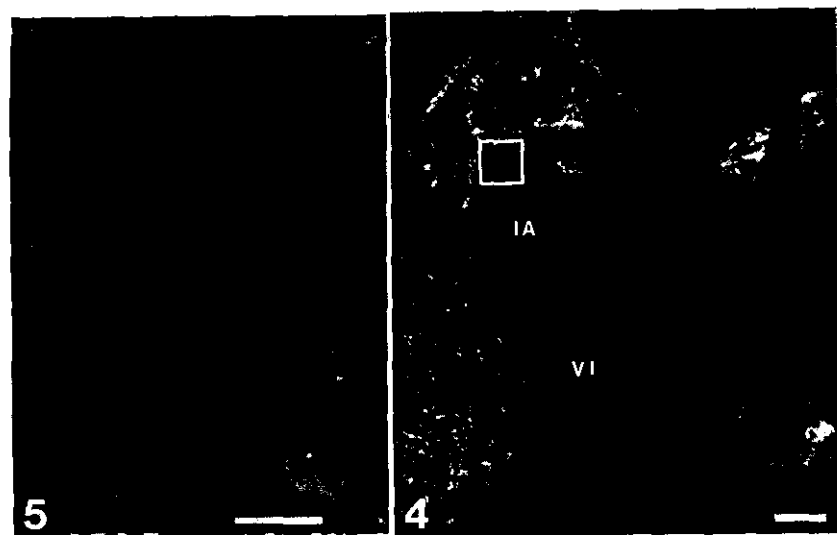
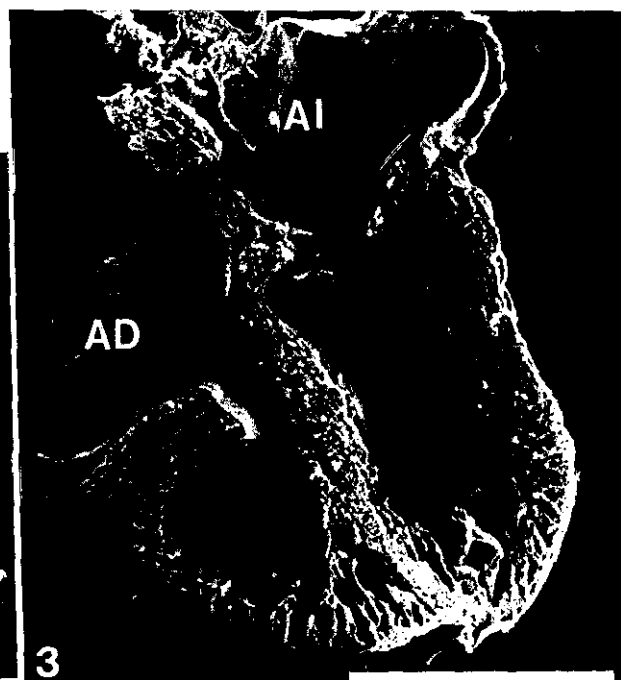
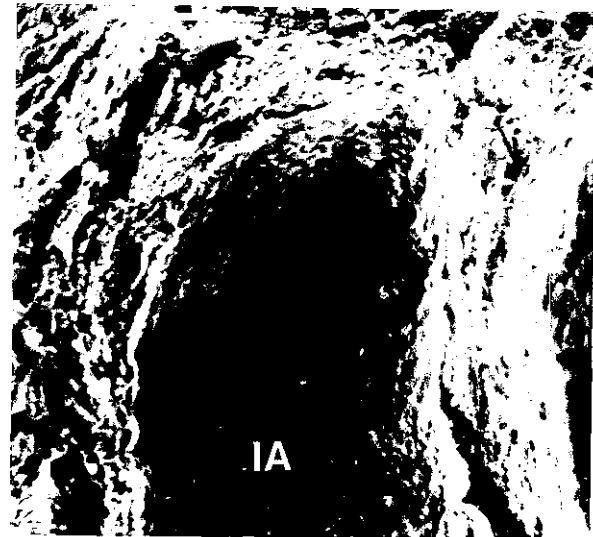
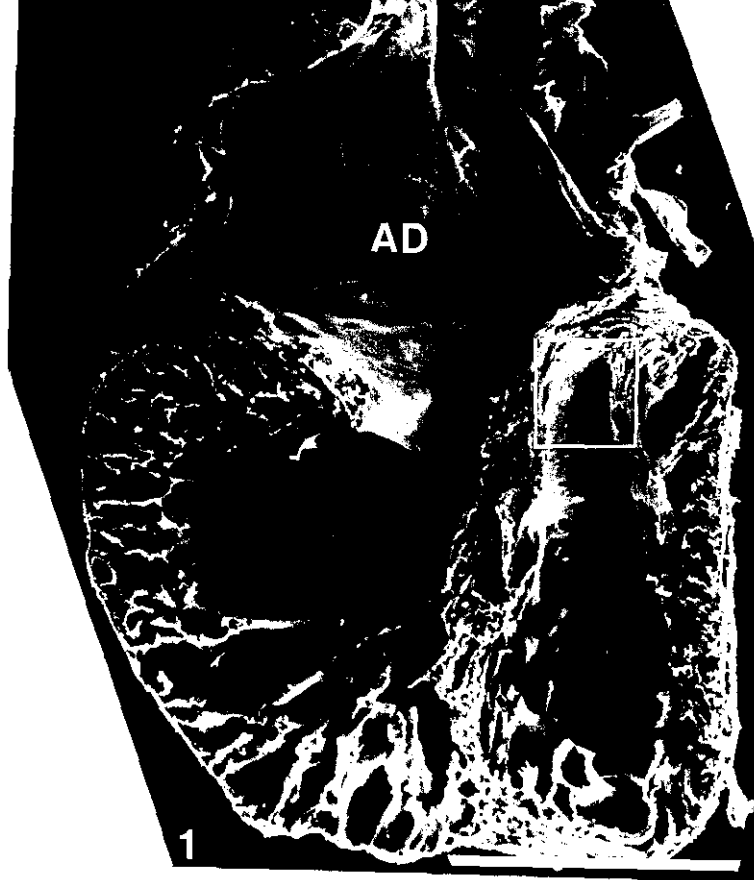
AI: aurícula izquierda; **ve:** vellosidades epicárdicas.

Barra: 1000 μm .

Foto 7 . — Embrión **Mh 100** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μm .



LAMINA 38.

Foto 1. — Embrión **Mh 103** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AI: aurícula izquierda; **oavd:** orificio auriculoventricular derecho.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión **Mh 103** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **IA:** infundíbulo aórtico.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3. — Embrión **Mh 106** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

AI: aurícula izquierda; **oavd:** orificio auriculoventricular derecho; **IA:** infundíbulo aórtico; **IP:** infundíbulo pulmonar.

Barra: 1000 μ m.

Foto 4. — Embrión **Mh 106** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μ m.

Foto 5. — Embrión **Mh 108** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

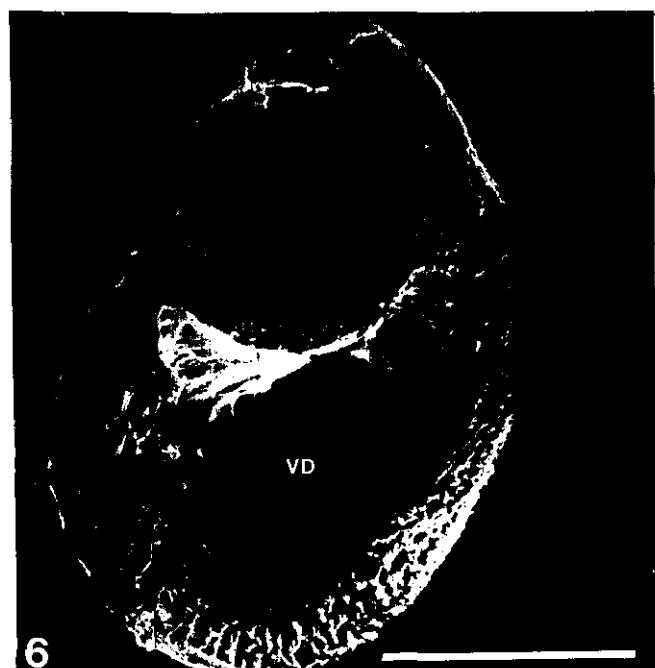
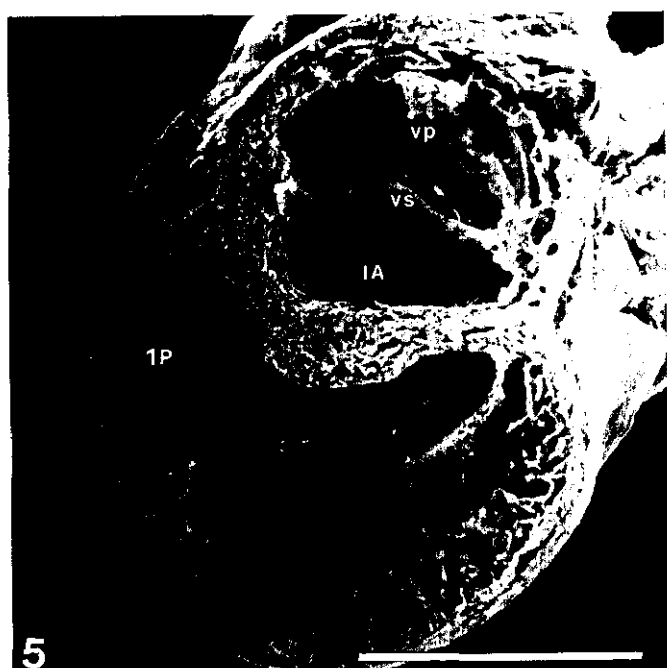
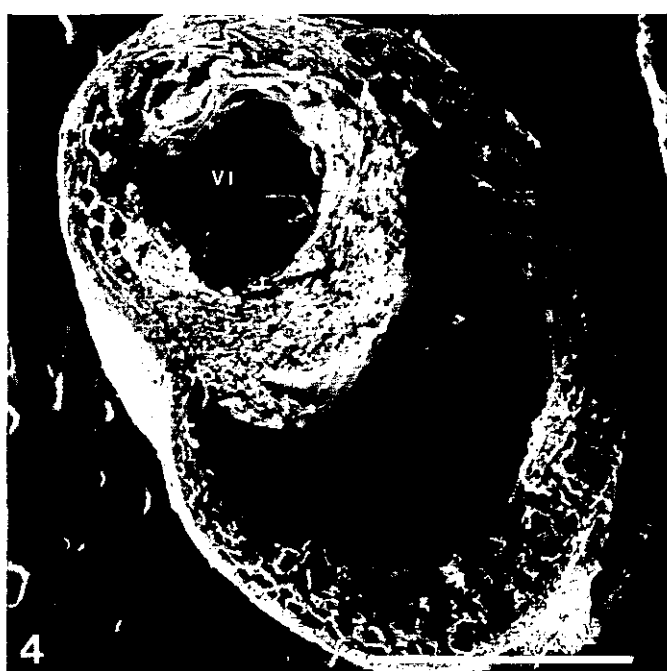
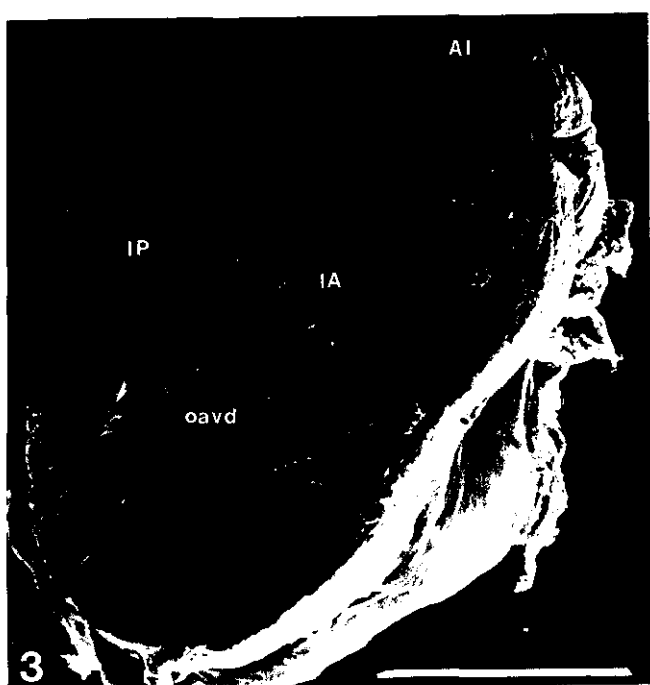
IA: infundíbulo aórtico; **IP:** infundíbulo pulmonar; **vp:** valva parietal; **vs:** valva septal.

Barra: 1000 μ m.

Foto 6. — Embrión **Mh 108** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

VD: ventrículo derecho.

Barra: 1000 μ m.



2.- Testigos de heparina intervenidos en el E 25 HH.

Han sido intervenidos 43 embriones (TABLA 7) de los que:

- 5 → MO.
- 15 → MEB.
- 11 (+).
- 12 n.c.

a) Mortalidad.

De los 31 embriones considerados, 11 murieron, lo que supone una mortalidad del 35'4%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 31 embriones considerados 4 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 12'9%.

De estos 4 embriones malformados ninguno fue fijado vivo.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 26):

- Embrión Mh 12 (+):
 - Celosomía abdominal.
- Embrión Mh 14 (+):
 - Hipoplasia mandibular.
 - Celosomía abdominal.
- Embrión Mh 17 (+):
 - Celosomía abdominal.

- Embrión Mh 18 (+):

- Celosomía abdominal

c) Malformaciones cardíacas.

De los 15 → MEB, 3 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 20%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 27):

- Embrión Mh 9 (LAMINA 39: Foto 1):

- Cardiopatía hipertrófica del ventrículo izquierdo, que afecta a la totalidad del ventrículo. Así, están hipertrofiados las paredes septal y libre, el ápex, lo mismo que las trabéculas.

- Embrión Mh 20 (LAMINA 39: Foto 2):

- Cardiopatía hipertrófica de ambos ventrículos.
- Estenosis subaórtica.

- Embrión Mh 25 (LAMINA 39: Foto 3):

- Hipertrofia del *septum interventriculare*. Estenosis subaórtica.

TABLA 26.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS TES-
TIGOS DE HEPARINA INTERVENIDOS
EN EL ESTADIO 25 HH.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mh 12	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Mh 14	-	-	-	-	*	-	-	-	*	-
Mh 17	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Mt 18	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 27 .

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS TESTIGOS DE HEPARINA INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 25 HH .

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mh 9	-	-	*
Mh 20	-	-	*
Mh 25	-	-	*

LAMINA 39.

Foto 1. — Embrión **Mh 9** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; **IA:** infundíbulo aórtico.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión **Mh 20** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Infundíbulo aórtico estenosado (Punta de flecha).

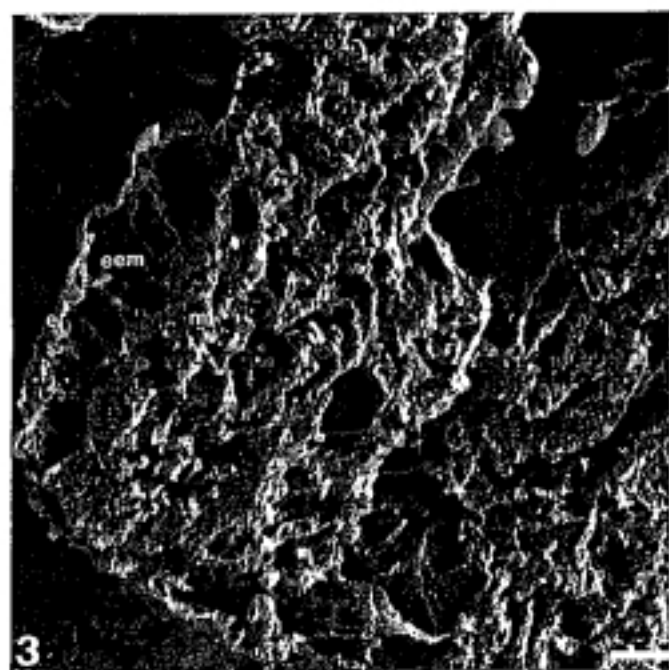
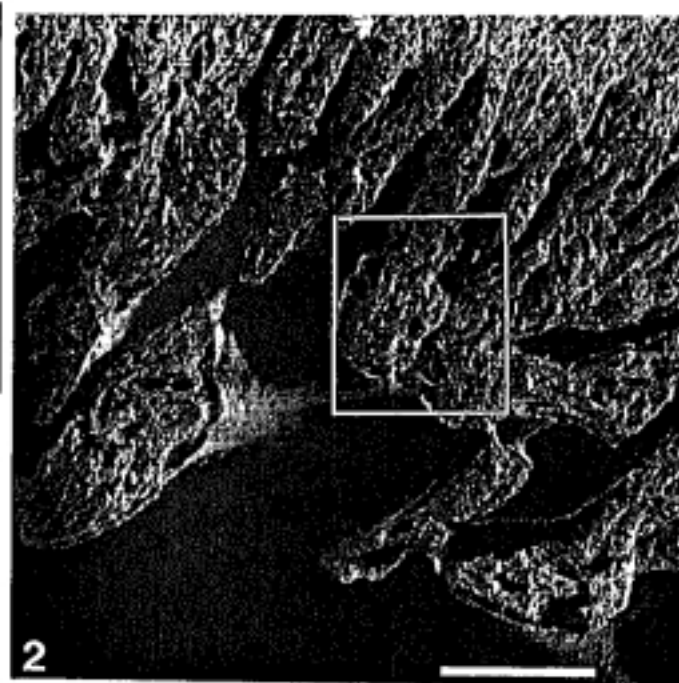
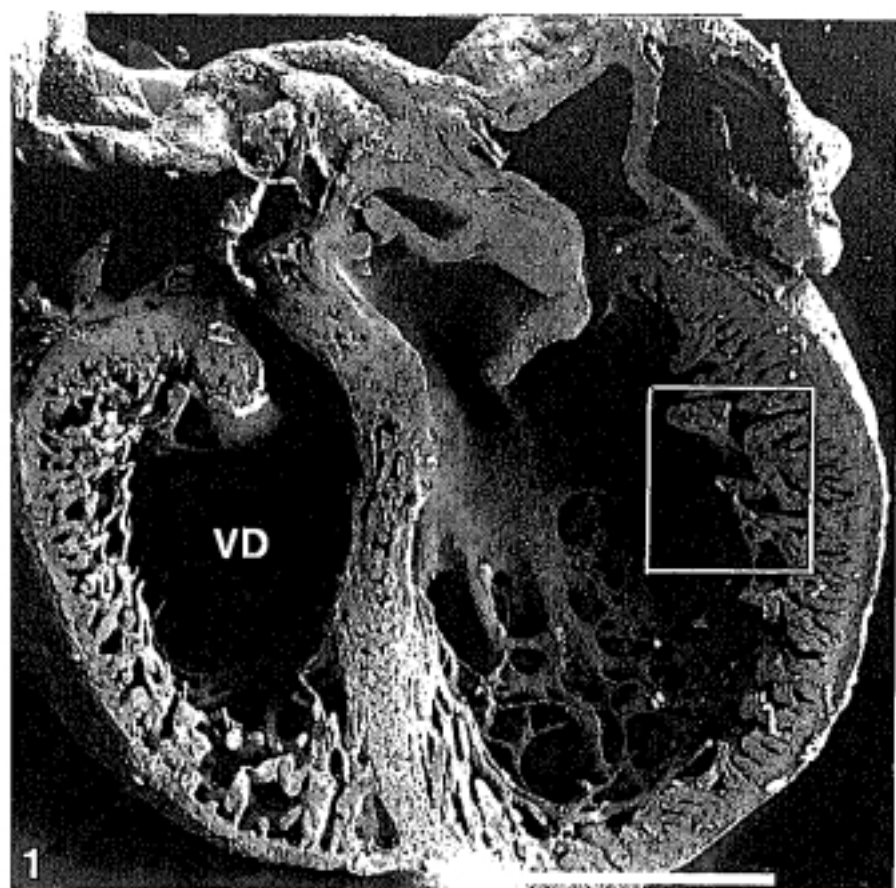
AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3. — Embrión **Mh 25** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

A: arteria aorta; **AD:** aurícula derecha, **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.



3.- Testigos de heparina intervenidos en el E 29 HH.

Han sido intervenidos 22 embriones (TABLA 8) de los que:

- 5 → MO.
- 11 → MEB.
- 5 (+).
- 1 n.c.

a) Mortalidad.

De los 21 embriones considerados, 5 murieron, lo que supone una mortalidad del 23'8%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 21 embriones considerados, 3 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 14'2%.

De estos 3 embriones malformados fueron fijados vivos los 3.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 28):

- Embrión Mh 35 (E 35 HH) → MEB:

- Microftalmía izquierda.
- Desviación de pico.
- Ausencia total de cola.

- Embrión **Mh 39** (E 35 HH) → MO:

- Microftalmía izquierda.
- Desviación de pico.
- Ausencia total de cola.

- Embrión **Mh 45** (E 31 HH) → MEB:

- Retraso en el crecimiento.
- Desviación de pico.
- Ausencia total de cola.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 11 → MEB, 8 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 72'2%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (**TABLA 29**):

- Embrión **Mh 34** (**LAMINA 40: Fotos 1 y 2**):

- Retraso en el proceso de trabeculización. Nótese la falta de compactación de las trabéculas de la pared libre del ventrículo derecho, al igual que la alteración del patrón trabecular del ventrículo izquierdo, sobre todo de su pared libre.

- Embrión **Mh 35** (**LAMINA 41: Foto 1**):

- Retraso en el proceso de trabeculización, sobre todo en el proceso de compactación de las trabéculas de la pared libre del ventrículo derecho.

- Embrión **Mh 36** (**LAMINA 40: Foto 5**):

- Cardiopatía dilatada. El ventrículo izquierdo va a presentar una morfología anómala, siendo iguales su eje transversal y longitudinal.

- Retraso en el proceso de trabeculización en ambos ventrículos. El ventrículo derecho presenta un retraso en el proceso de compactación de las trabéculas de la pared libre. El ventrículo izquierdo presenta unas trabéculas atípicas, delgadas y finas.

- Embrión **Mh 37 (LAMINA 40: Foto 6):**

- Cardiopatía dilatada. Nótese el volumen intracavitario anómalo presentado por ambos ventrículos.

- Retraso en el proceso de trabeculización.

- Embrión **Mh 40 (LAMINA 41: Fotos 3, 4 y 5):**

- Retraso en el proceso de trabeculización. Al observar la sección de una trabécula del ventrículo derecho apreciamos un aspecto esponjoso por la existencia de amplios espacios intermiocíticos, al igual que un amplio espacio endomiocárdico.

- Embrión **Mh 41:**

- Retraso en el proceso de trabeculización, apreciándose numerosos espacios intermiocíticos, así como amplios espacios endomiocárdicos.

- Embrión **Mh 45 (LAMINA 41: Foto 2):**

- Retraso en el proceso de trabeculización, principalmente en el proceso de compactación de las trabéculas de ambos ventrículos. Nótese el aspecto trabeculado que presenta la cámara de entrada del ventrículo izquierdo.

- Embrión **Mh 55 (LAMINA 40: Fotos 3 y 4):**

- Alteración en el proceso de trabeculización del ventrículo derecho. Presenta unas trabéculas de forma atípica aplanadas.

TABLA 28.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS TES-
TIGOS DE HEPARINA INTERVENIDOS
EN EL ESTADIO 29 HH.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mh 35	-	*	-	*	*	-	-	-	-	*
Mh 39	-	*	-	*	*	-	-	-	-	*
Mh 45	-	-	-	*	*	-	-	-	-	*

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 29.

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS TESTIGOS DE HEPARINA INTERVENIDOS EN EL ESTADIO 29 HH.

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mh 34	*	-	-
Mh 35	*	-	-
Mh 36	*	*	-
Mh 37	*	*	-
Mh 40	*	-	-
Mh 41	*	-	-
Mh 45	*	-	-
Mh 55	*	-	-

LAMINA 40.

Foto 1. — Embrión **Mh 34** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

A: arteria aorta; **AD:** aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 2. — Detalle ventrículo derecho de la foto 1.
oavd: orificio auriculoventricular derecho; **VD:** ventrículo derecho.

Barra: 100 μm .

Foto 3. — Embrión **Mh 55** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 4. — Detalle ventrículo derecho de la foto 3.
Barra: 100 μm .

Foto 5. — Embrión **Mh 36** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

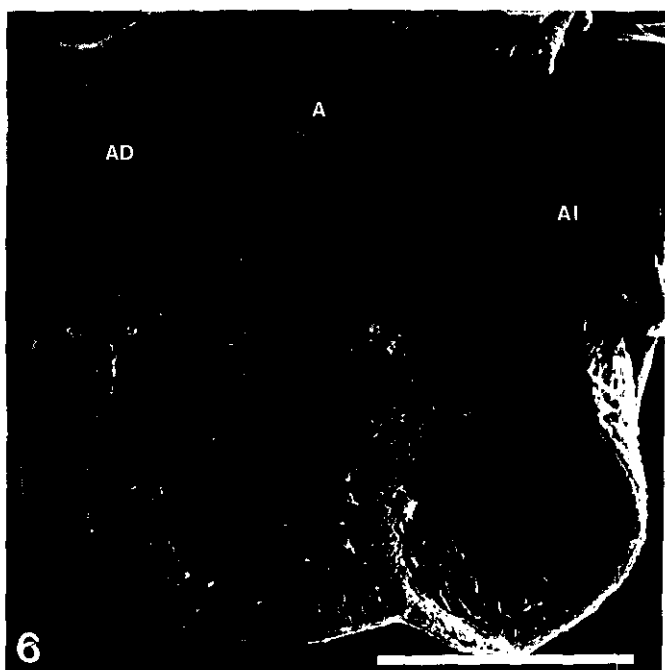
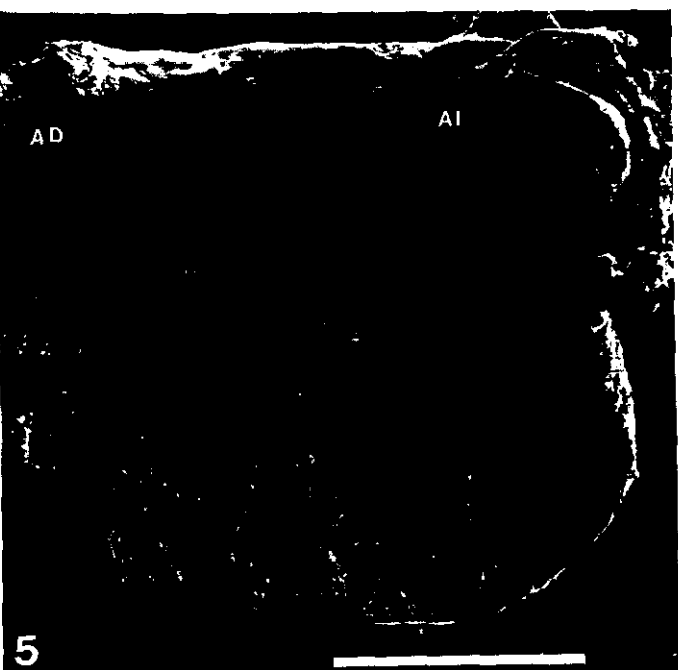
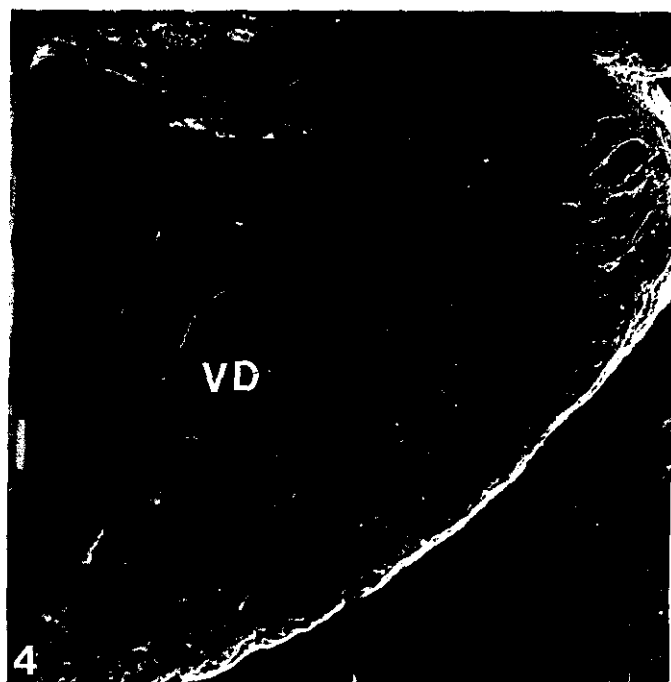
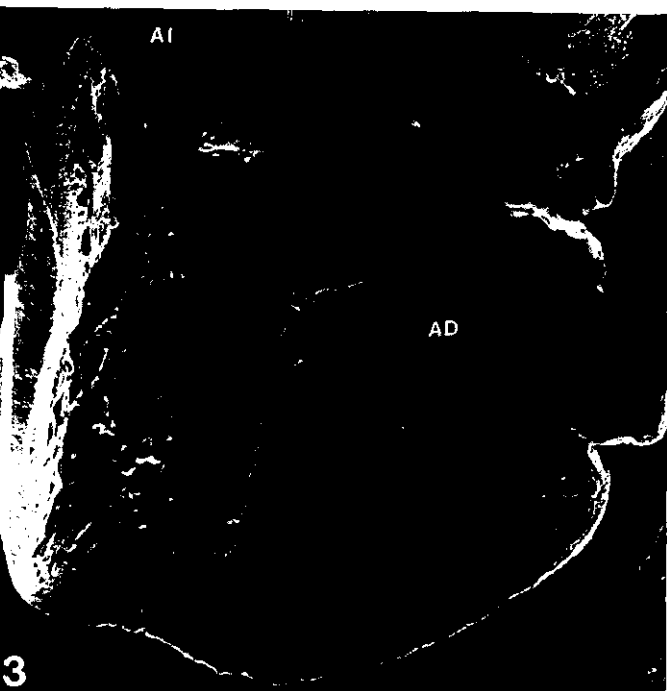
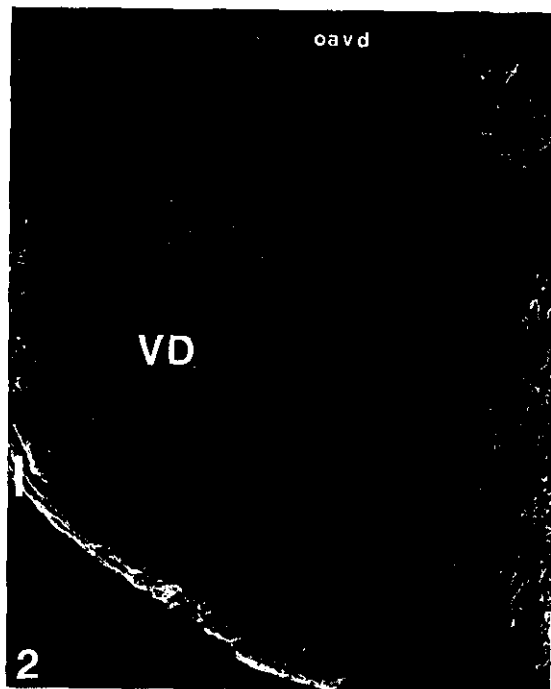
AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 6. — Embrión **Mh 37** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

A: arteria aorta; **AD:** aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .



LAMINA 41.

Foto 1. — Embrión **Mh 35** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión **Mh 45** (Estadío esperado o teórico: E 35 HH; estadío real: E 31 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3. — Embrión **Mh 40** (E 35 HH) cortado parasagitalmente por su lado derecho, fragmento izquierdo, visión derecha. Infundíbulo pulmonar (Punta de flecha).

Barra: 100 μ m.

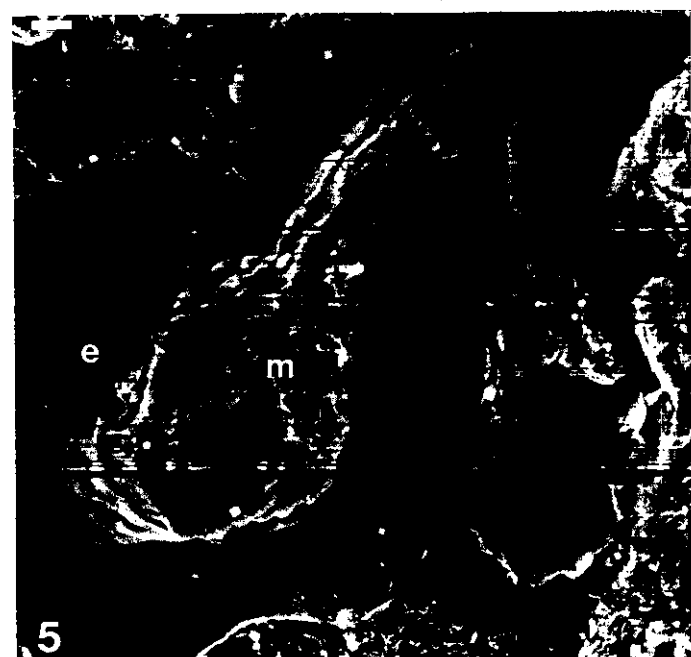
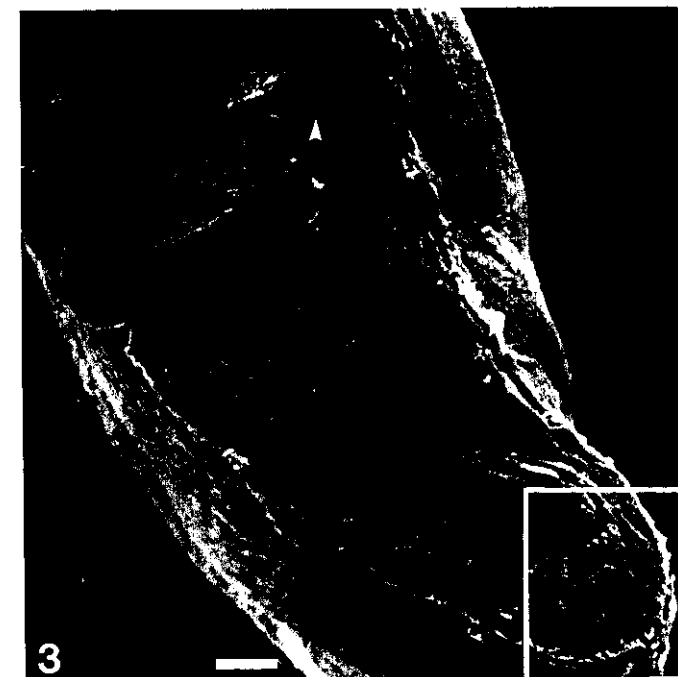
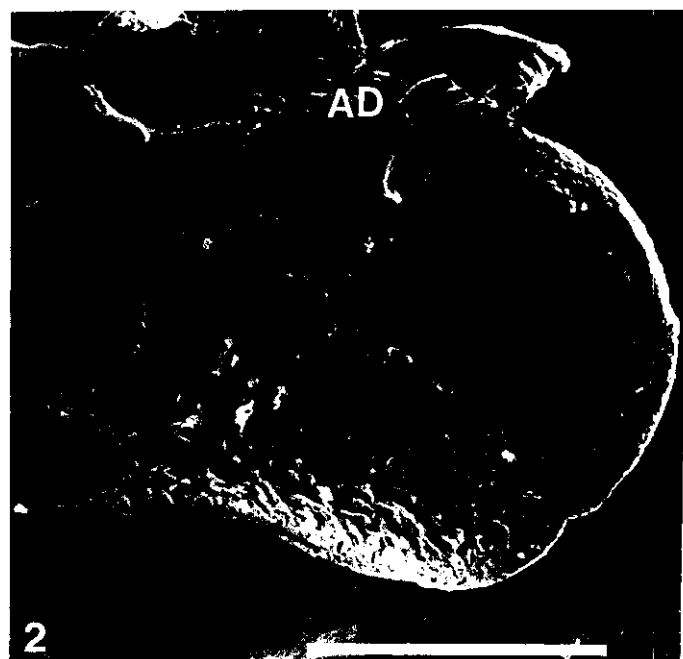
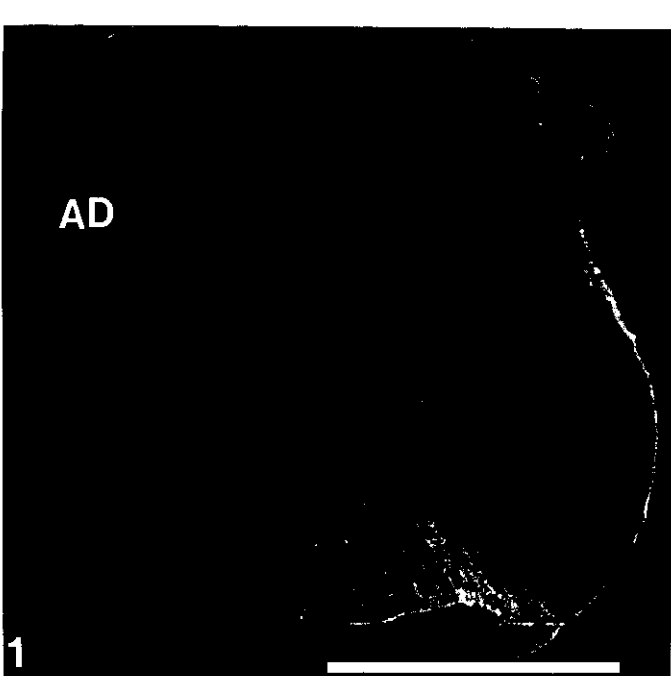
Foto 4. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 3. La trabécula marcada con un asterisco la podemos observar a mayor aumento en la foto 5.

Barra: 100 μ m.

Foto 5. — Detalle de la trabécula marcada en la foto 4 con un asterisco.

e: endocardio; **m:** miocardio.

Barra: 10 μ m.



IV. EMBRIONES OPERADOS

De los 307 embriones intervenidos (TABLAS 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17):

- 41 fueron "procesados para su estudio a microscopía óptica" (→ MO).
- 106 fueron "procesados para su estudio a microscopía electrónica de barrido" (→ MEB).
- 114 "murieron" (+).
- 46 "no fueron considerados" (n.c.) por presentar hemorragia en el momento de la intervención o por morir en el transcurso de los primeros 30 min. tras la intervención.

De los 261 embriones considerados:

- 114 murieron, lo que supone una "mortalidad" del 43'6%.
- 50 presentaron "malformaciones morfológicas externas", lo que supone un 19'1%.

De los 106 → MEB, 9 se perdieron durante el proceso de desecado en el punto crítico. De los 97 restantes, 38 presentaron "malformaciones cardíacas", lo que supone un 39'1%.

Hemos seleccionado los corazones más representativos de cada uno de los tres estadios de intervención.

Los hemos denominado "Mo X" ("M" Murillo, "o" operado y "X" número del embrión).

A continuación vamos a describir los resultados obtenidos en cada uno de los tres estadios de intervención.

1.- Embriones operados en el E 22 HH: ↑ 7%.

Han sido intervenidos 27 embriones (TABLA 9) de los que:

- 5 → MO.
- 14 → MEB.
- 7 (+).
- 1 n.c.

a) Mortalidad.

De los 26 embriones considerados, 7 murieron, lo que supone una mortalidad del 26'9%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 26 embriones considerados, 7 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 26'9%.

De estos 7 embriones malformados fueron fijados vivos los 7.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 30):

- Embrión Mo 207 (E 35 HH) → MEB:

- Ectopia cordis.
- Ausencia total de cola.

- Embrión Mo 212 (E 35 HH) → MO (LAMINA 42: Fotos 1, 2, 3 y 4):

- Microftalmía izquierda.

- Desviación de pico.
- Retraso en el desarrollo, fundamentalmente de las extremidades superiores e inferiores.
- Ausencia total de cola.
- Embrión Mo 223 (E 35 HH) → MEB:
 - Síndrome de cola corta incipiente.
- Embrión Mo 226 (E 35 HH) → MEB:
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión Mo 227 (E 35 HH) → MEB:
 - Pico hipoplásico.
- Embrión Mo 228 (E 35 HH) → MEB:
 - Ectopia cordis.
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión Mo 229 (E 35 HH) → MO:
 - Ectopia cordis.
 - Celosomía mínima.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 14 → MEB, 3 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 21'4%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 31):

- Embrión Mo 225:
 - Retraso en el proceso de trabeculización, principalmente en el proceso de compactación.
 - Retraso en el proceso de remodelación del infundíbulo aórtico.

- Embrión Mo 228 (LAMINA 43: Fotos 2 y 3):

- Retraso en el proceso de trabeculización. Se observan trabéculas inmaduras y cordones trabeculares en ambos ventrículos. Nótese como el anclaje muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho presenta un retraso en su proceso de remodelación.

- Compárese con el embrión Mo 226 (LAMINA 43: Foto 1) que no presenta ningún tipo de alteración.

- Embrión Mo 238:

- Retraso en el proceso de trabeculización, con la presencia de trabéculas inmaduras en ambos ventrículos.

TABLA 30.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
22 HH: ↑ 7%.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 207	-	-	-	-	-	-	-	*	-	*
Mo 212	-	*	-	*	*	*	*	-	-	*
Mo 223	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mo 226	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mo 227	-	-	-	*	*	-	-	-	-	-
Mo 228	-	-	-	-	-	-	-	*	-	*
Mo 229	-	-	-	-	-	-	-	*	*	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; **Mx.**: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; **Abd.**: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 31.

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO 22 HH: ↑ 7%.

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 225	*	-	-
Mo 228	*	-	-
Mo 238	*	*	-

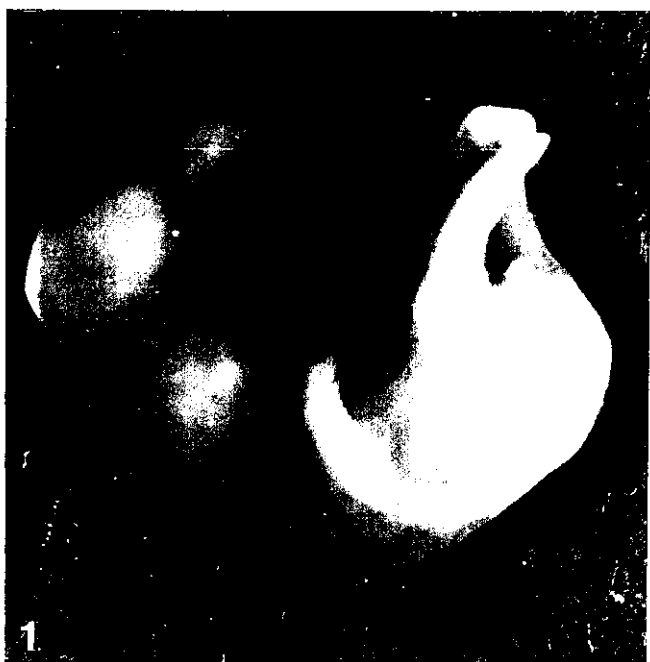
LAMINA 42 .

Foto 1 . — Embrión **Mo** 212 (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 6'3.

Foto 2 . — Detalle de la foto 1 x 8.

Foto 3 . — Embrión **Mo** 212 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 6'3.

Foto 4 . — Detalle de la foto 3 x 8.



LAMINA 43 .

Foto 1 .— Embrión **Mo 226** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

VD: ventrículo derecho; **VI:** ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 .— Embrión **Mo 228** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

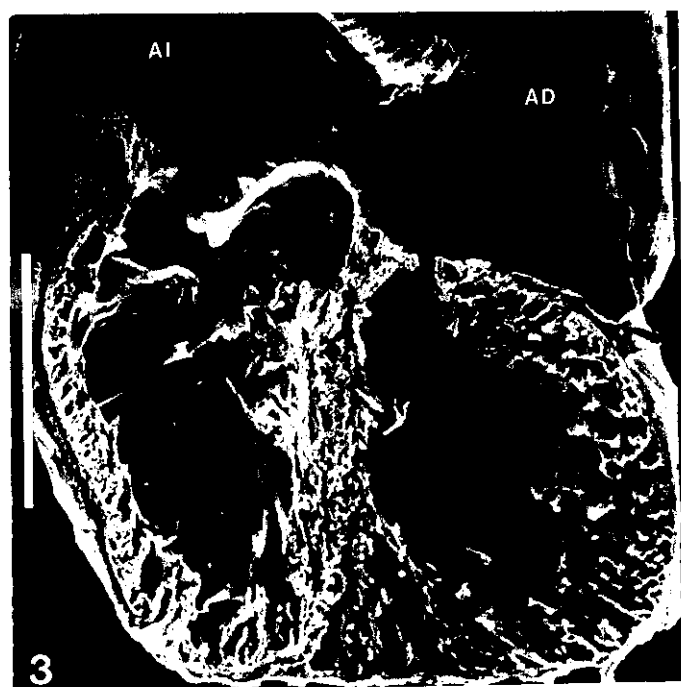
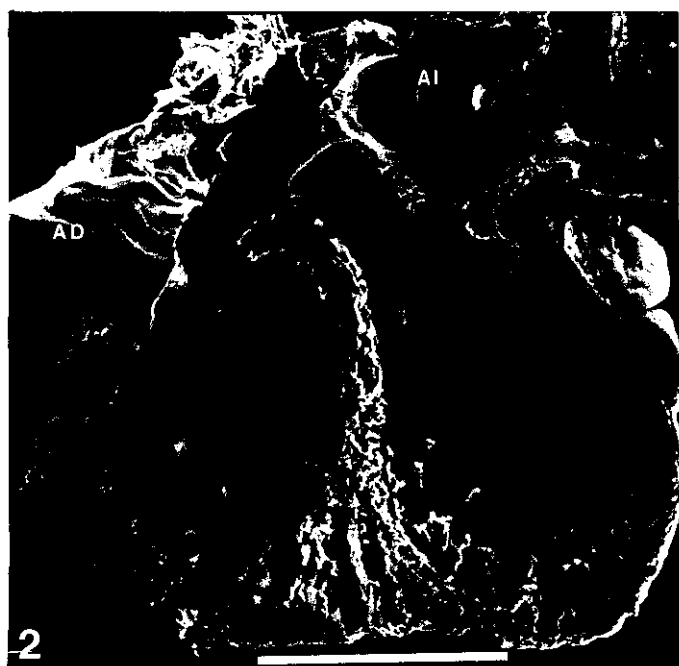
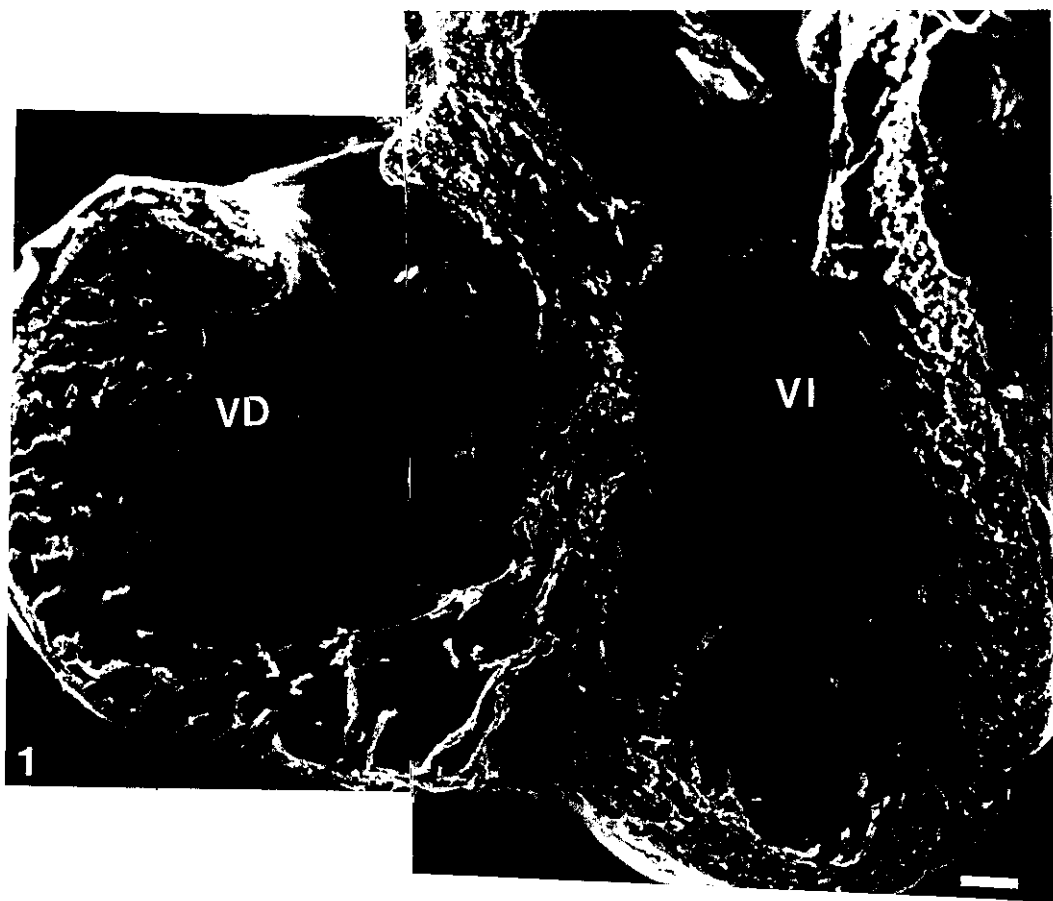
AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3 .— Embrión **Mo 228** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.



2.- Embriones operados en el E 22 HH: ↑ 15%.

Han sido intervenidos 35 embriones (TABLA 10) de los que:

- 5 → MO.
- 10 → MEB.
- 19 (+).
- 1 n.c.

a) Mortalidad.

De los 34 embriones considerados, 19 murieron, lo que supone una mortalidad del 55'8%.

b) Malformaciones morfológicas externas .

De los 34 embriones considerados, 5 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 14'7%.

De estos 5 embriones malformados fueron fijados vivos 2.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 32):

- Embrión Mo 249 (+):
 - Pico hipoplásico.
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión Mo 269 (+):
 - Celosomía tóracoabdominal.

- Embrión Mo 271 (+):
 - Microftalmía izquierda.
- Embrión Mo 281 (E 35 HH) → MEB:
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión Mo 283 (E 35 HH) → MEB:
 - Síndrome de cola corta marcado.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 10 → MEB, 2 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 20%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 33):

- Embrión Mo 242 (LAMINA 44: Fotos 4, 5 y 6):
 - Comunicación interventricular alta.
- Embrión Mo 280 (LAMINA 44: Fotos 1, 2 y 3):
 - Alteración del patrón trabecular. Nótese las trabéculas anómalas de la porción muscular de la valva parietal del orificio aurículoventricular derecho, así como la trabécula de la región apical del ventrículo derecho.
 - Retraso en el proceso de cierre de la *pars membranacea* de la comunicación interventricular. Nótese las depresiones que presenta el endocardio por no haberse completado la fusión de las partes que cierran esta comunicación.

TABLA 32 .

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
22 HH: ↑ 15% .

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 249	-	-	-	*	*	-	-	*	*	*
Mo 269	-	-	-	-	-	-	-	*	*	-
Mo 271	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-
Mo 281	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
Mo 283	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 33 .

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESEN-
TADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS
EN EL ESTADIO 22 HH: ↑ 15% .

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 280	*	-	-

LAMINA 44 .

Foto 1 . — Embrión **Mo 280** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento basal, visión caudal.

oavd: orificio auriculoventricular derecho; **IA:** infundíbulo aórtico; **IP:** infundíbulo pulmonar.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 . — Embrión **Mo 280** (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal. Trabécula anómala (Asterisco).

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 3 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1. *Pars membranacea* del siv.

Barra: 100 μm .

Foto 4 . — Embrión **Mo 242** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Comunicación interventricular (Punta del flecha).

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda; **vs:** valva septal.

Barra: 1000 μm .

Foto 5 . — Embrión **Mo 242** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal. Comunicación interventricular (Punta de flecha).

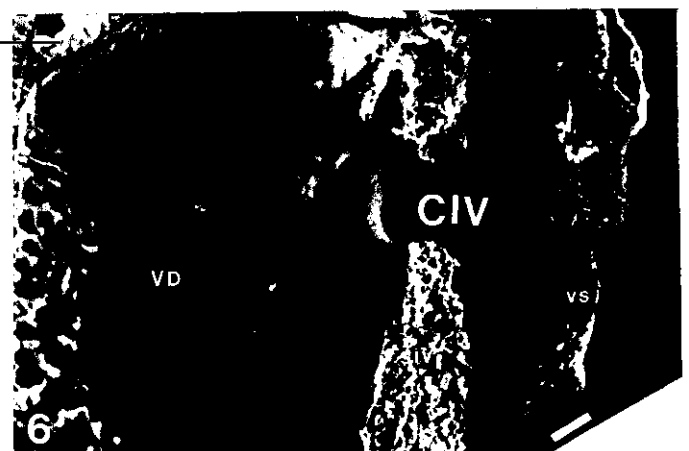
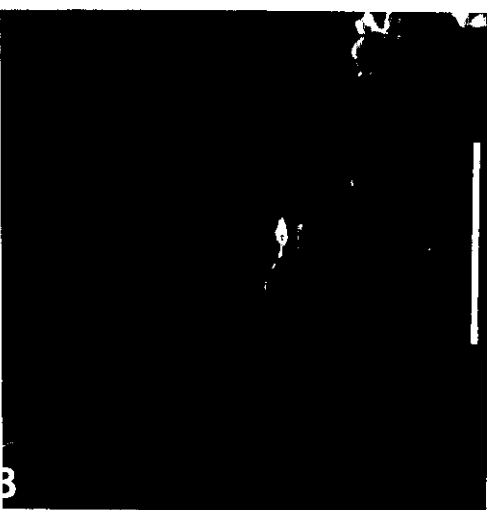
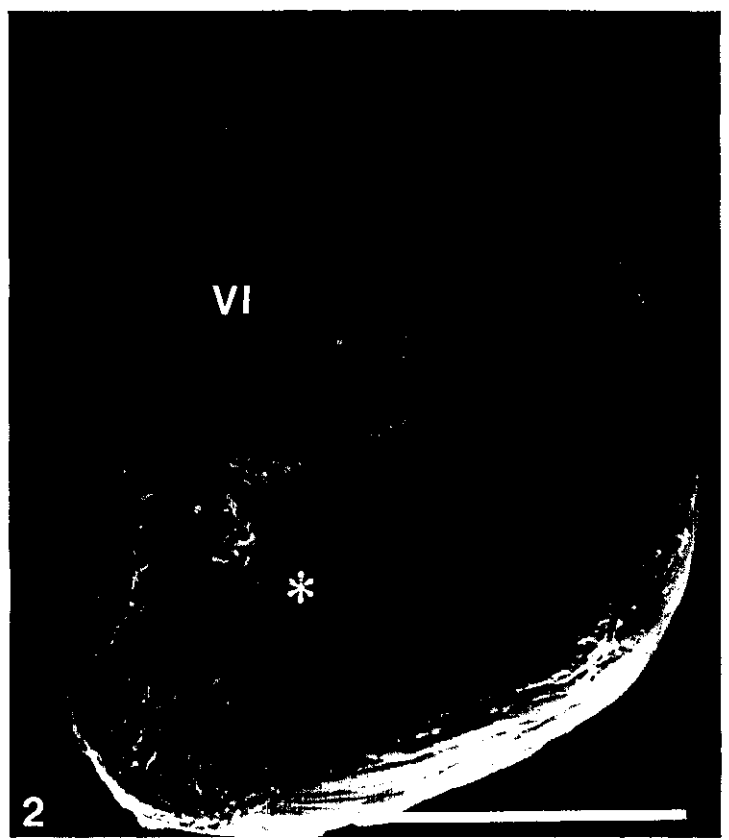
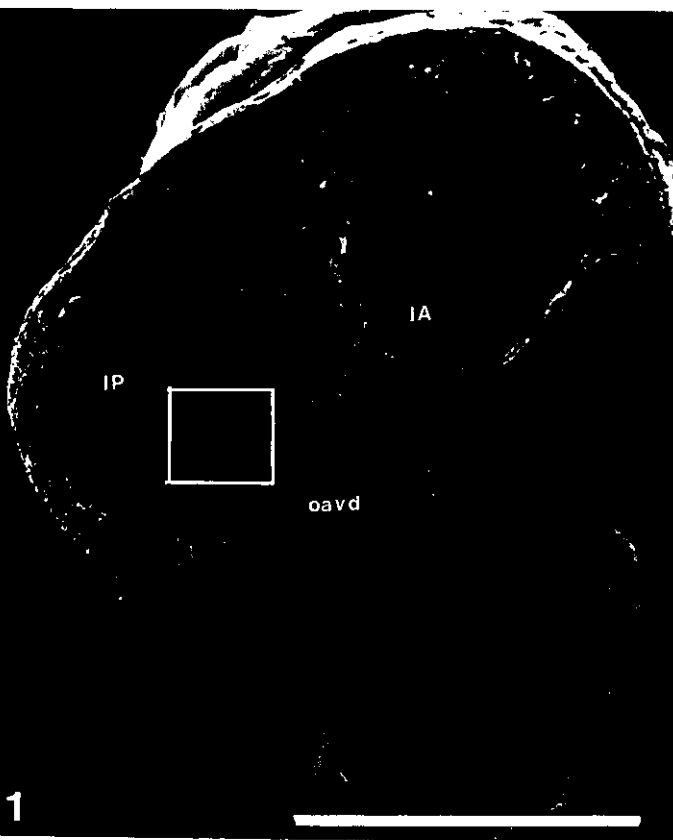
A: arteria aorta; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 6 . — Detalle de la comunicación interventricular de la foto 4.

CIV: comunicación interventricular; **VD:** ventrículo derecho; **vs:** valva septal.

Barra: 100 μm .



3.- Embriones operados en el E 22 HH: ↑ 25%.

Han sido intervenidos 14 embriones (TABLA 11) de los que:

- 2 → MO.
- 9 → MEB.
- 2 (+).
- 1 n.c.

a) Mortalidad.

De los 13 embriones considerados, 2 murieron, lo que supone una mortalidad del 15'3%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 13 embriones considerados sólo el embrión Mo 302 presentaba malformaciones morfológicas externas (TABLA 34), lo que supone un 7'6%. Fue fijado vivo y procesado para su estudio a MO. Presentaba:

- Extremidades inferiores malformadas.
- Celosomía tóracoabdominal.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 9 → MEB, 3 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 33'3%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 35):

- Embrión Mo 291:

- Cardiopatía hipertrófica. El *septum interventriculare* se encuentra hipertrofiado en su zona apical de implantación.

- Embrión Mo 293 (LAMINA 45: Fotos 1 y 2):

- Cardiopatía dilatada. Afecta a los dos ventrículos. Presentan unas paredes muy adelgazadas, así como un patrón trabecular totalmente atípico. Nótese lo dilatado que está el infundíbulo aórtico.

- Embrión Mo 295 (LAMINA 46: Fotos 1 y 2):

- Alteración del patrón trabecular del ventrículo izquierdo. Obsérvese el componente muscular atípico de la valva parietal del orificio aurículoventricular izquierdo.

TABLA 34 .

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
22 HH: ↑ 25% .

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 302	-	-	-	-	-	-	*	*	*	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 35 .

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESEN-
TADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS
EN EL ESTADIO 22 HH: ↑ 25% .

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 291	-	-	*
Mo 293	-	*	-
Mo 295	*	-	-

LAMINA 45 .

Foto 1 .— Embrión **Mo 293** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

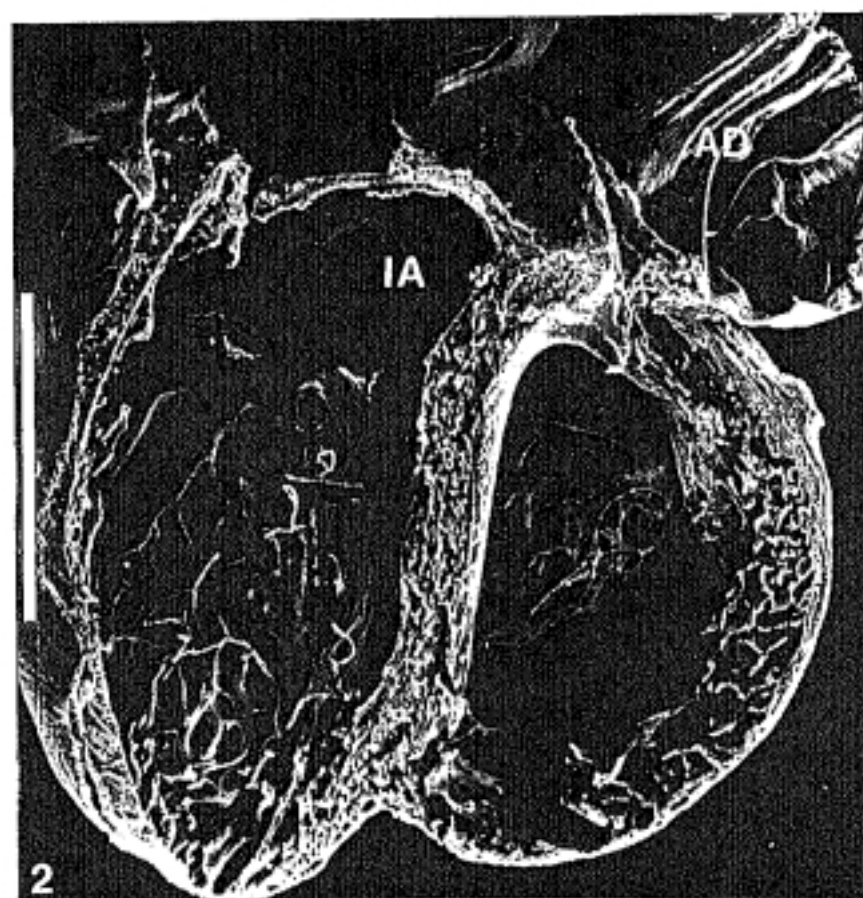
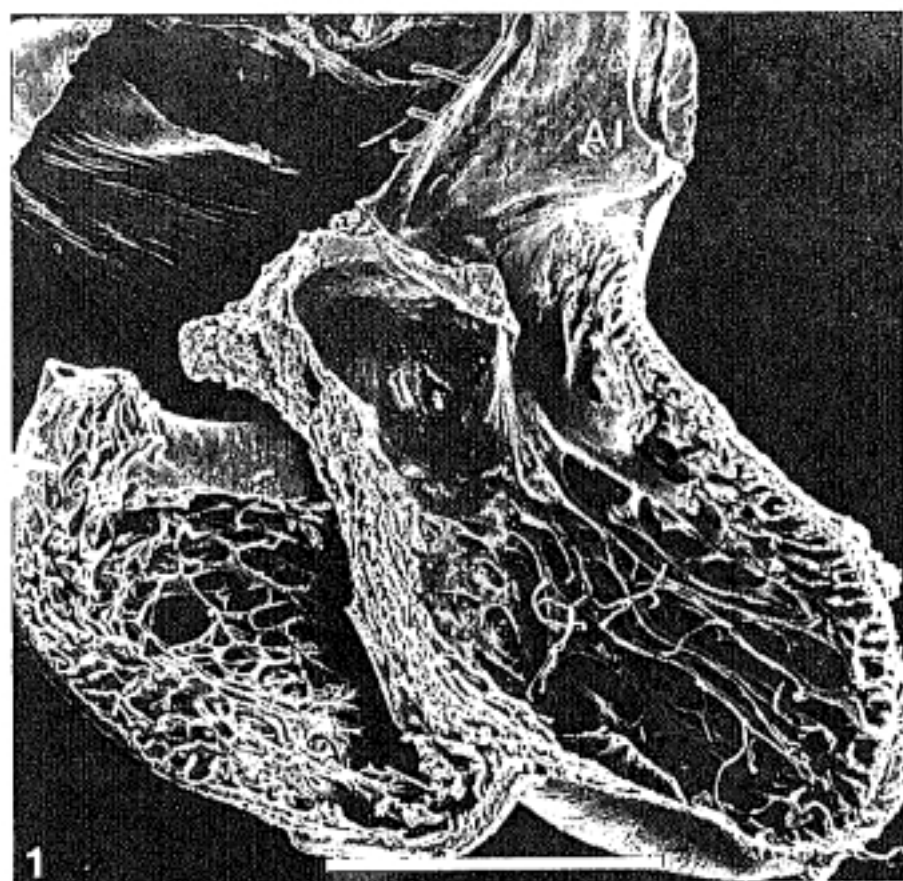
AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 .— Embrión **Mo 293** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **IA:** infundíbulo aórtico.

Barra: 1000 μm .



LAMINA 46.

Foto 1. — Embrión **Mo 295** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

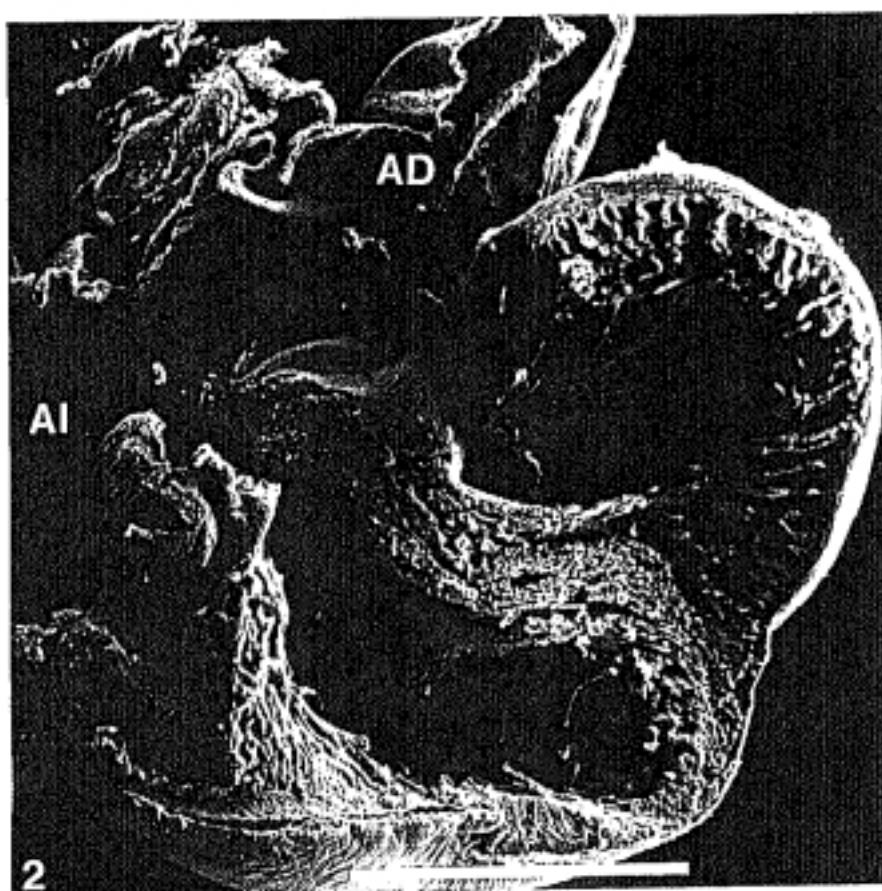
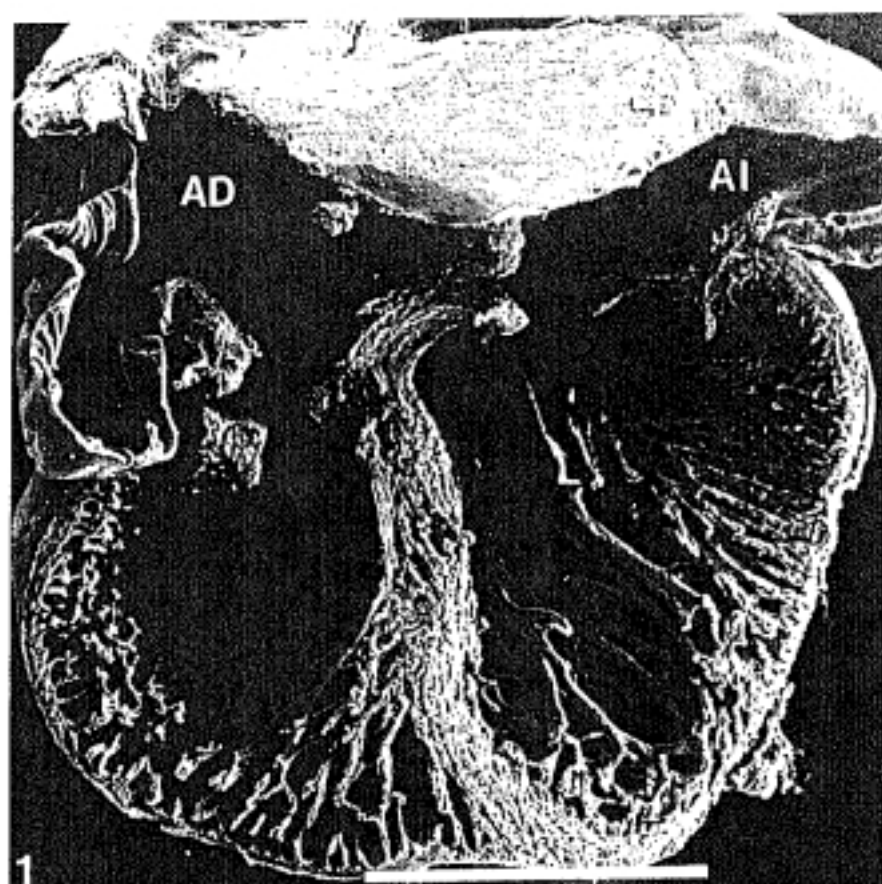
AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión **Mo 295** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.



4.- Embriones operados en el E 25 HH: ↑ 7%.

Han sido intervenidos 48 embriones (TABLA 12) de los que:

- 5 → MO.
- 17 → MEB (7 se perdieron durante el proceso de desecado en el punto crítico).

- 18 (+).

- 8 n.c.

a) Mortalidad.

De los 40 embriones considerados, 18 murieron, lo que supone una mortalidad del 45%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 40 embriones considerados, 6 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 15%.

De estos 6 embriones malformados fueron fijados vivos los 6.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 36):

- Embrión Mo 42 (E 35 HH) → MEB (LAMINA 47: Fotos 1 y 2):
 - Anoftalmía izquierda.
 - Desviación de pico.

- Embrión Mo 56 (E 35 HH) → MEB (LAMINA 47: Fotos 6 y 7):
 - Exencefalia del hemisferio izquierdo.
 - Microftalmía izquierda.
 - Desviación de pico.
- Embrión Mo 60 (E 35 HH) → MEB:
 - Hidrocefalia.
- Embrión Mo 61 (E 35 HH) → MEB (LAMINA 47: Fotos 3 y 4):
 - Anoftalmía izquierda.
 - Desviación de pico.
- Embrión Mo 62 (E 35 HH) → MEB (LAMINA 47: Foto 5):
 - Microftalmía izquierda.
 - Pico hipoplásico y desviado.
- Embrión Mo 94 (E 35 HH) → MO:
 - Microftalmía izquierda.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 10 → MEB considerados (7 se perdieron durante el proceso de desecado en el punto crítico no siendo considerados en este apartado) 5 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 50%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 37):

- Embrión Mo 37 (LAMINA 48: Foto 1):
 - Alteración del patrón trabecular en ambos ventrículos.
 - Retraso en el proceso de coalescencia de las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare*.

- Cardiopatía dilatada del ventrículo izquierdo. No existe un predominio del eje ventricular longitudinal sobre el transversal, siendo ambos más o menos iguales.

- Embrión Mo 44:

- Hipertrofia del *septum interventriculare*. Las trabéculas que constituyen la zona trabeculada del *septum interventriculare* por su lado derecho están hipertrofiadas. Presenta numerosos espacios intertrabeculares en su espesor por un defecto en el proceso de coalescencia de sus trabéculas.

- Embrión Mo 58 (LAMINA 48: Foto 2):

- Alteración del patrón trabecular fundamentalmente del ventrículo izquierdo.

- Embrión Mo 66:

- Alteración del patrón trabécula del ventrículo izquierdo. El tamaño de su cavidad es normal, sin embargo, presenta escasas trabéculas.

- Embrión Mo 88 (LAMINA 48: Fotos 3, 4, 5 y 6):

- Retraso en el proceso de trabeculización. Se observan puntos de invaginación del endocardio, numerosos espacios intermiocíticos en el miocardio trabecular y amplios espacios endomiocárdicos ocupados por abundante gelatina cardíaca, característico todo ello de estadios más jóvenes.

TABLA 36.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
25 HH: ↑ 7%.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 42	-	*	-	*	*	-	-	-	-	-
Mo 56	*	*	-	*	*	-	-	-	-	-
Mo 60	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mo 61	-	*	-	*	*	-	-	-	-	-
Mo 62	-	*	-	*	*	-	-	-	-	-
Mo 94	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 37.

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO 25 HH: ↑ 7%.

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 37	*	*	-
Mo 44	-	-	*
Mo 58	*	-	-
Mo 66	*	-	-
Mo 88	*	-	-

LAMINA 47 .

Foto 1 . — Embrión Mo 42 (E 35 HH). Visión lateral derecha de la cabeza x 12'5.

Foto 2 . — Embrión Mo 42 (E 35 HH). Visión lateral izquierda de la cabeza x 12'5.

Foto 3 . — Embrión Mo 61 (E 35 HH). Visión ventral de la cabeza x 12'5.

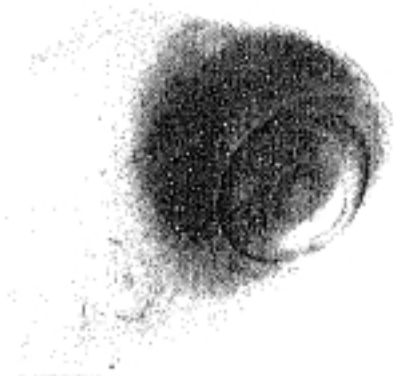
Foto 4 . — Embrión Mo 61 (E 35 HH). Visión lateral izquierda de la cabeza x 12'5.

Foto 5 . — Embrión Mo 62 (E 35 HH). Visión ventral de la cabeza x 12'5.

Foto 6 . — Embrión Mo 56 (E 35 HH). Visión craneal de la cabeza x 12'5.

Foto 7 . — Embrión Mo 56 (E 35 HH). Visión lateral izquierda de la cabeza x 12'5.

1



2



3



4



5



6



7



LAMINA 48.

Foto 1. — Embrión **Mo 37** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; **vp:** valva parietal; **vs:** valva septal.

Barra: 1000 μm .

Foto 2. — Embrión **Mo 58** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

A: arteria aorta; **VI:** ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 3. — Embrión **Mo 88** (E 35 HH) cortado parasagitalmente por su lado derecho, fragmento izquierdo, visión derecha.

Barra: 1000 μm .

Foto 4. — Detalle de la base de una trabécula de la foto 3. Célula endocárdica invaginándose (Punta de flecha).

e: endocardio.

Barra: 10 μm .

Foto 5. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 3.

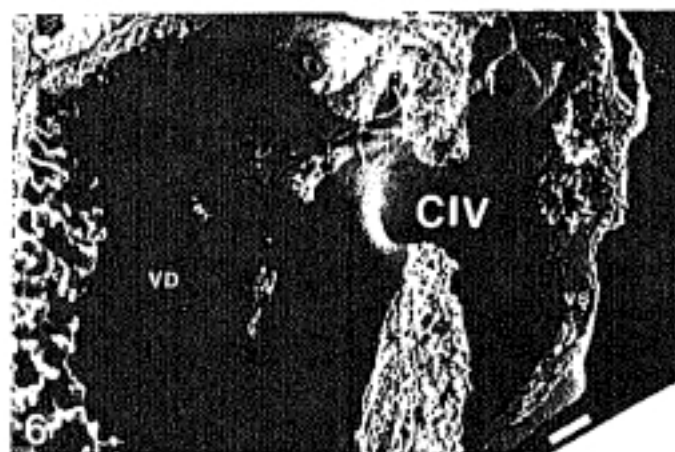
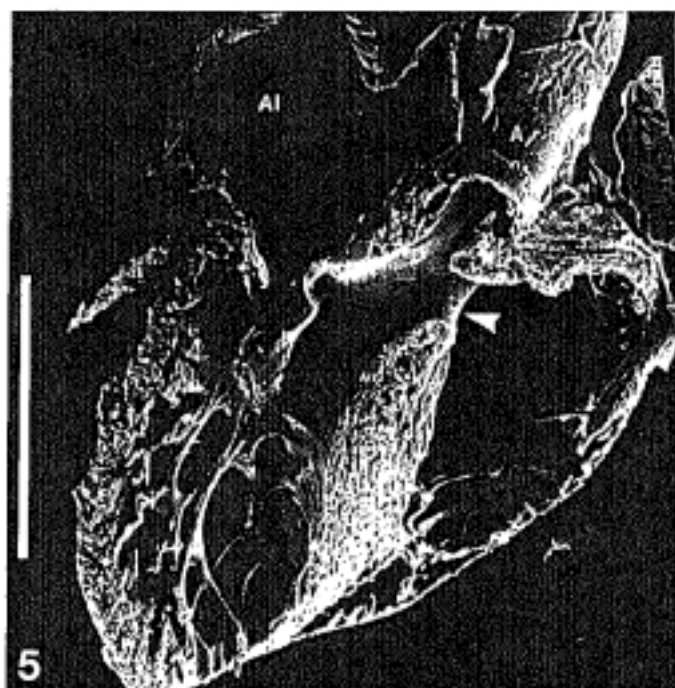
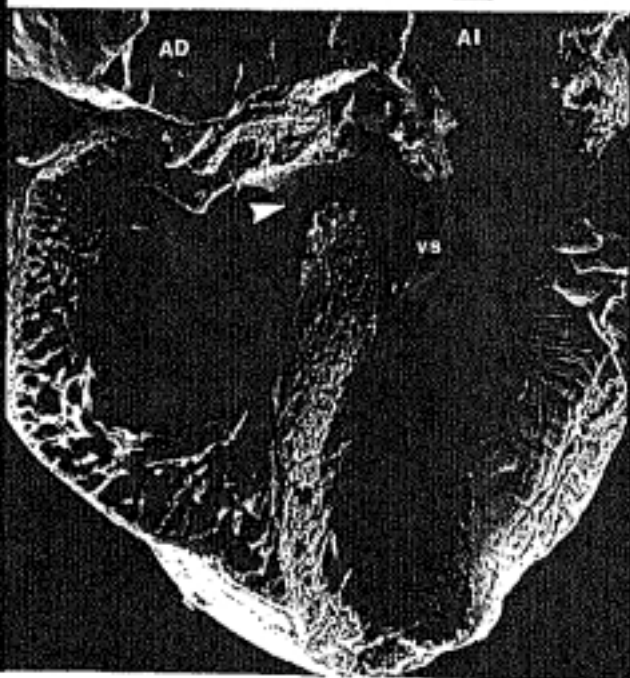
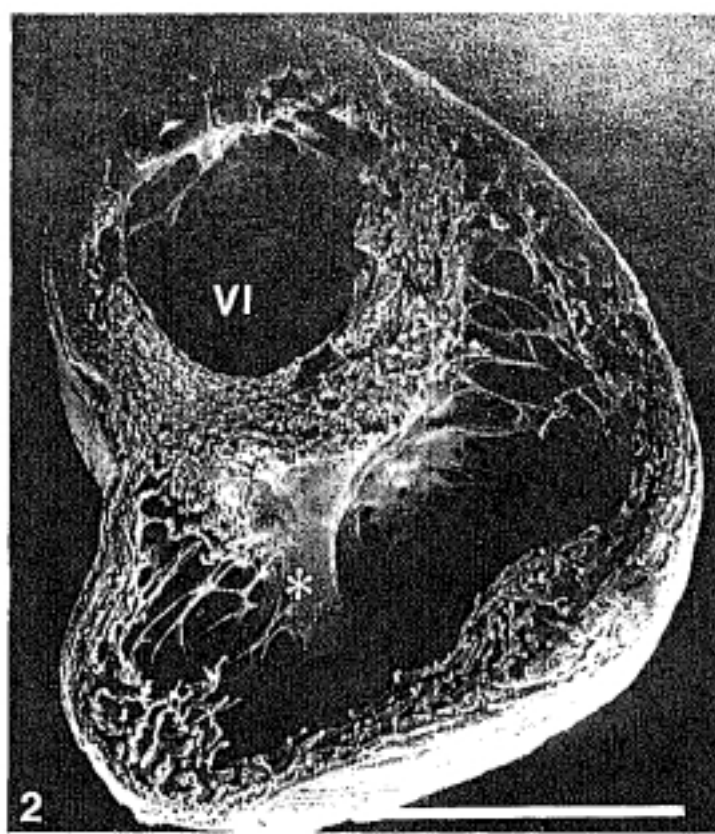
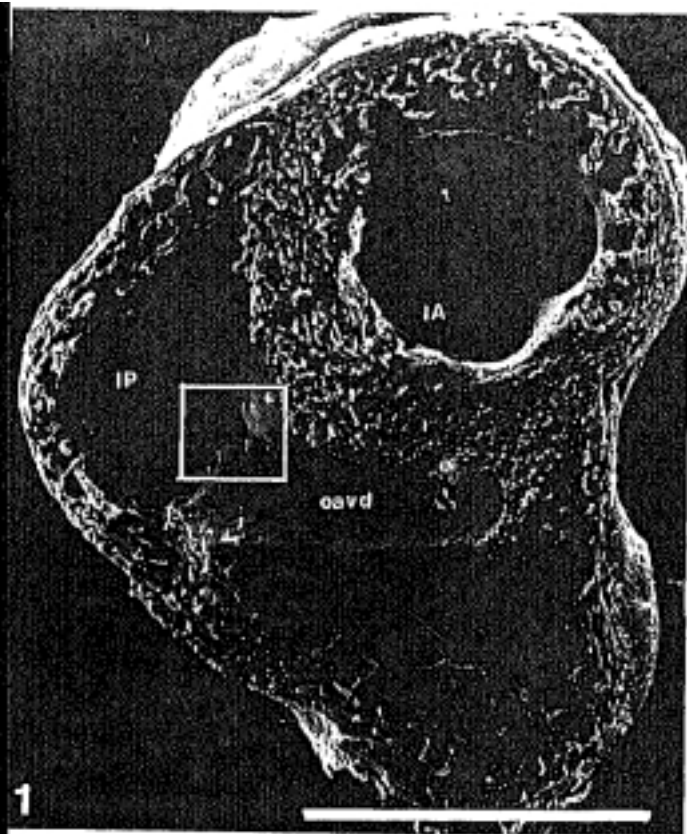
e: endocardio; **m:** miocardio.

Barra: 10 μm .

Foto 6. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 5.

e: endocardio; **eem:** espacio endomiocárdico; **m:** miocardio.

Barra: 10 μm .



5.- Embriones operados en el E 25 HH: ↑ 15%.

Han sido intervenidos 66 embriones (TABLA 13) de los que:

- 5 → MO.

- 14 → MEB (2 se perdieron durante el proceso de desecado en el punto crítico).

- 28 (+).

- 19 n.c.

a) Mortalidad.

De los 47 embriones considerados, 28 murieron, lo que supone una mortalidad del 59'5%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 47 embriones considerados, 7 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 14'8%.

De estos 7 embriones malformados fueron fijados vivos 4.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 38):

- Embrión Mo 16 (+):

- Celosomía abdominal.

- Embrión Mo 26 (+):

- Celosomía abdominal.

- Embrión Mo 28 (+):

- Celosomía abdominal.

- Embrión **Mo 29** (E 36 HH) → MEB (**LAMINA 49: Fotos 1, 2 y 3**):

- Anoftalmía izquierda.
- Desviación de pico.
- Celosomía abdominal.
- Ausencia total de cola.

- Embrión **Mo 110** (E 35 HH) → MO:

- Microftalmía izquierda.
- Desviación de pico.

- Embrión **Mo 151** (E 35 HH) → MO:

• Retraso en el desarrollo de las extremidades superiores e inferiores.

- Ausencia total de cola.

- Embrión **Mo 152** (E 35 HH) → MO:

- Celosomía tóracoabdominal.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 12 → MEB considerados (2 se perdieron durante el proceso de desecado en el punto crítico no siendo consideramos en este apartado), 9 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 75%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (**TABLA 39**):

- Embrión **Mo 2** (**LAMINA 50: Fotos 1, 2, 3, 4 y 5**):

• Cardiopatía hipertrófica de ambos ventrículos. Nótese los numerosos espacios intermiocíticos existentes en el miocardio trabecular, así como los amplios espacios endomiocárdicos ocupados por gelatina cardíaca.

- El *septum interventriculare* se encuentra hipertrofiado. Presenta un aspecto compacto y homogéneo.

- Embrión Mo 5:

- Retraso en el proceso de coalescencia de las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare*, observándose múltiples espacios intertrabeculares en su espesor.

- Embrión Mo 10 (LAMINA 51: Fotos 1, 2 y 3):

- Cardiopatía dilatada. Se ha producido un aumento en el volumen intracavitario de ambos ventrículos. Las trabéculas de ambos ventrículos se han adosado a las paredes ventriculares. Son trabéculas gruesas en las que se observan numerosos espacios intermiocíticos en el espesor del miocardio, así como amplios espacios endomiocárdicos conteniendo gelatina cardíaca. Si no fuera por el aumento de volumen intracavitario, cabría pensar en una cardiopatía hipertrófica al observar las paredes ventriculares compactas y engrosadas.

- La zona lisa del ventrículo izquierdo, que corresponde a la cámara de entrada y a la de salida, es más extensa de lo normal.

- El patrón trabecular del ventrículo izquierdo es totalmente atípico.

- En el *septum interventriculare* se observan espacios intertrabeculares. La zona trabeculada del tabique por su lado izquierdo es pareja a la del lado derecho.

- Embrión Mo 22:

- Retraso en el proceso de coalescencia de las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare*, observándose numerosos espacios intertrabeculares en su espesor.

- Embrión Mo 103 (LAMINA 52: Fotos 1, 2, 3 y 4):

- Retraso en el proceso de trabeculización. Existe un retraso en el proceso de compactación de las trabéculas del ventrículo derecho, las cuales presentan numerosos espacios intermiocíticos y amplios espacios endomiocárdicos.

- Embrión Mo 106:

- Alteración del patrón trabecular del ventrículo izquierdo. Presenta trabéculas muy pequeñas y adosadas a la pared ventricular.

- Pared libre del ventrículo izquierdo adelgazada.

- Espacios intertrabeculares en el espesor del *septum interventriculare*.

- Embrión Mo 108:

- Retraso en el proceso de trabeculización del ventrículo derecho. Presenta numerosos cordones trabeculares.

- Embrión Mo 111 (LAMINA 52: Fotos 5, 6, 7 y 8):

- Alteración del patrón trabecular de ambos ventrículos. Presenta numerosos cordones trabeculares y amplios espacios endomiocárdicos.

- Embrión Mo 155:

- Retraso en el proceso de trabeculización de ambos ventrículos, básicamente en el proceso de compactación de las láminas trabeculares. Se observan numerosas láminas trabeculares altas y delgadas, con amplios espacios endomiocárdicos.

TABLA 38.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
25 HH: ↑ 15%.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 16	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Mo 26	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Mo 28	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Mo 29	-	*	-	*	*	-	-	-	*	*
Mo 110	-	*	-	*	*	-	-	-	-	-
Mo 151	-	-	-	-	-	*	*	-	-	*
Mo 152	-	-	-	-	-	-	-	*	*	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 39.

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO 25 HH: ↑ 15%.

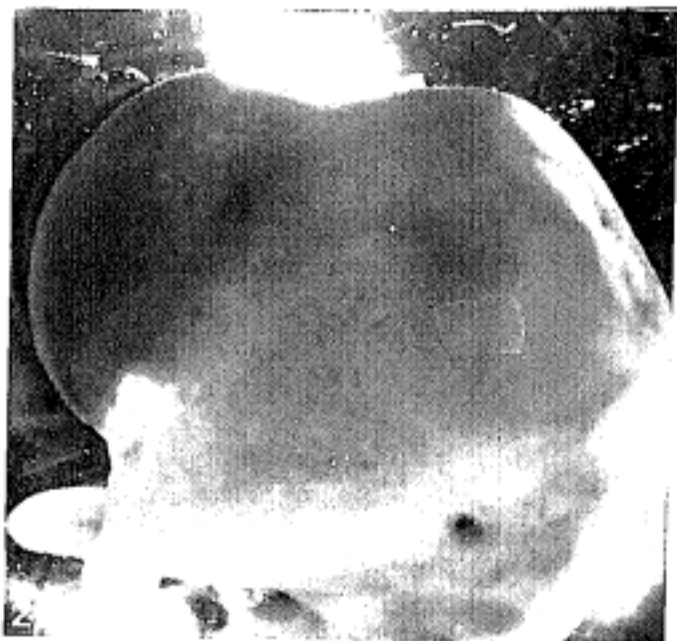
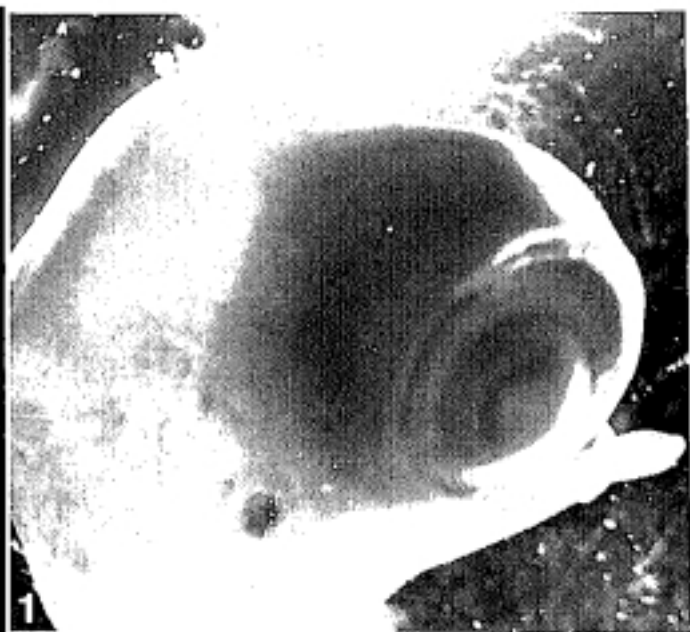
	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 2	-	-	*
Mo 5	*	-	-
Mo 10	-	*	-
Mo 22	*	-	-
Mo 103	*	-	-
Mo 106	*	-	-
Mo 108	*	-	-
Mo 111	*	-	-
Mo 155	*	-	-

LAMINA 49.

Foto 1.— Embrión **Mo 29** (E 36 HH). Visión lateral derecha de la cabeza x 12'5.

Foto 2.— Embrión **Mo 29** (E 36 HH). Visión lateral izquierda de la cabeza x 12'5.

Foto 3.— Embrión **Mo 29** (E 36 HH). Visión lateroventral del tronco x 8.



LAMINA 50.

Foto 1. — Embrión Mo 2 (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

A: arteria aorta; AD: aurícula derecha.

Barra: 1000 μm .

Foto 2. — Detalle ventrículo derecho de la foto 1.
siv: *septum interventriculare*; VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μm .

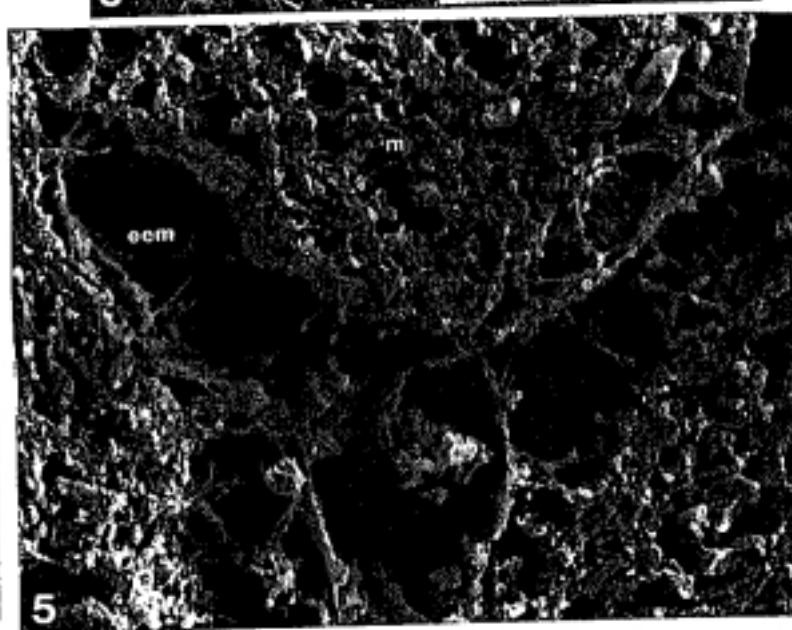
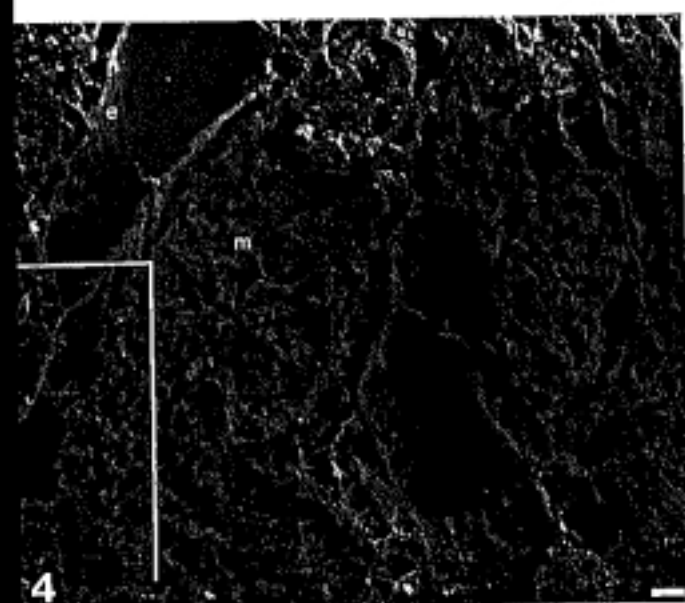
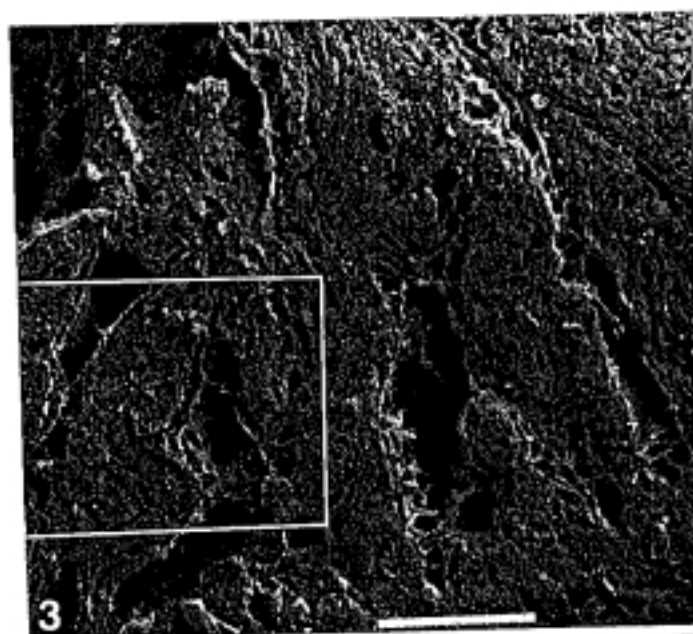
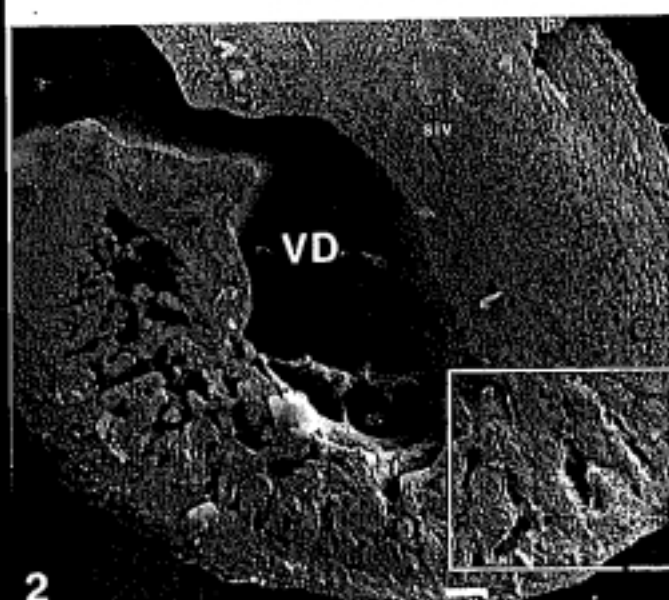
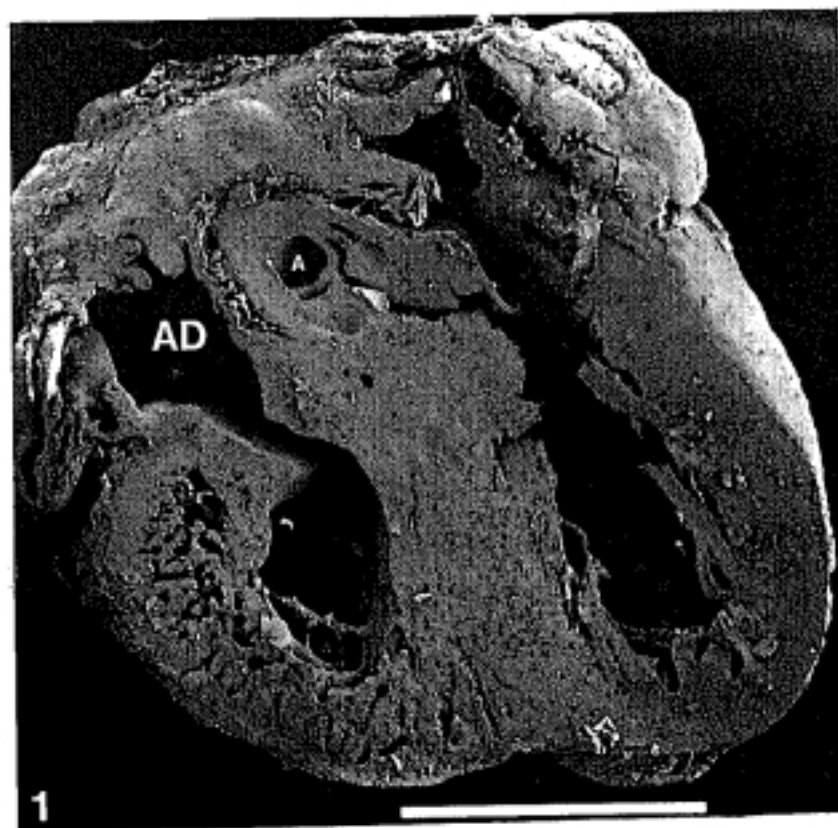
Foto 3. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 2.
Barra: 100 μm .

Foto 4. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 3.
e: endocardio; m: miocardio.

Barra: 10 μm .

Foto 5. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 4.
e: endocardio; eem: espacio endomiocárdico; m: miocardio.

Barra: 10 μm .



LAMINA 51.

Foto 1. — Embrión **Mo 10** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

VD: ventrículo derecho.

Barra: 1000 μm .

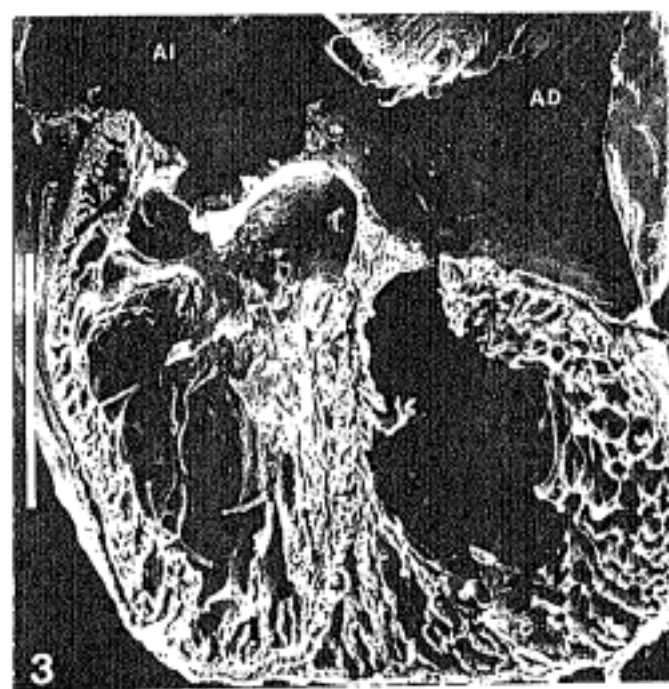
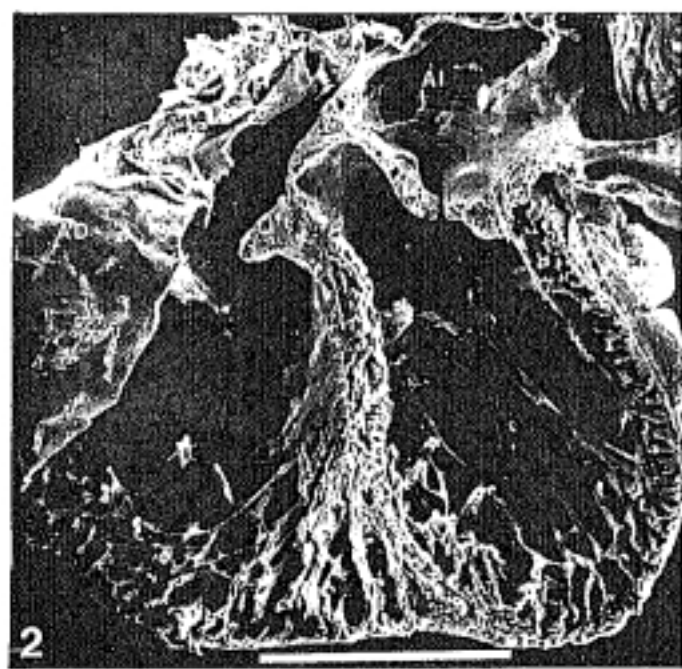
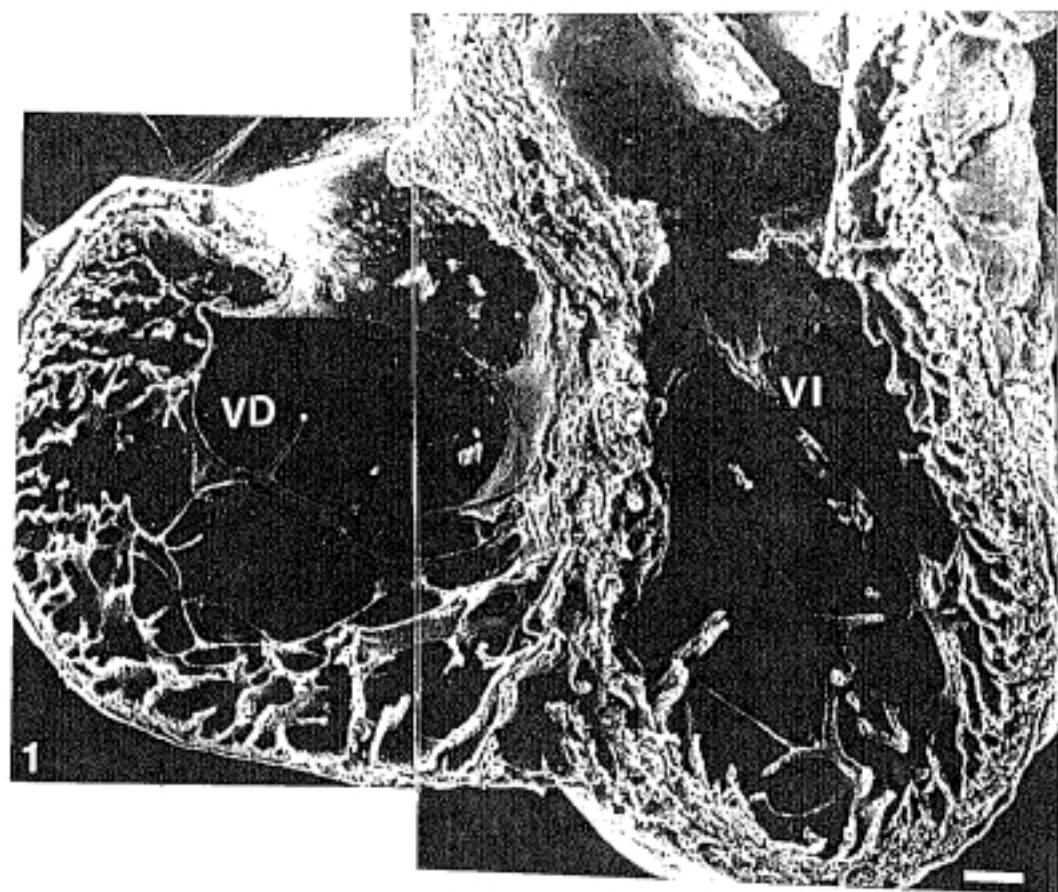
Foto 2. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1.

Barra: 100 μm .

Foto 3. — Detalle de la zona enmarcada en la foto 2.

e: endocardio; **eem:** espacio endomiocárdico; **m:** miocardio.

Barra: 10 μm .



LAMINA 52 .

Foto 1 . — Embrión Mo 103 (E 35 HH) cortado parasagitalmente por su lado derecho, fragmento izquierdo, visión derecha.

VD: ventrículo derecho.

Barra: 100 μ m.

Foto 2 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 1.

Barra: 100 μ m.

Foto 3 . — Detalle de la foto 2.

e: endocardio; eem: espacio endomiocárdico; m: miocardio.

Barra: 10 μ m.

Foto 4 . — Detalle de la foto 2.

e: endocardio; m: miocardio.

Barra: 10 μ m.

Foto 5 . — Embrión Mo 111 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μ m.

Foto 6 . — Detalle de las trabéculas del fondo del ventrículo derecho de la foto 5. Cordón trabecular roto (Punta de flecha).

Barra: 100 μ m.

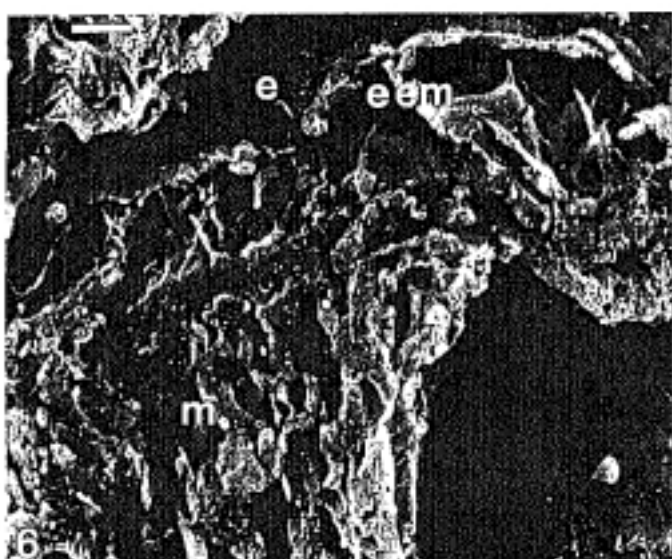
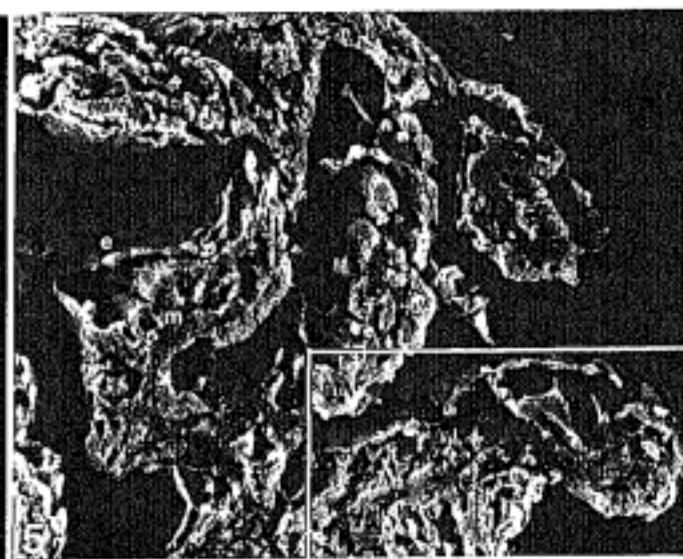
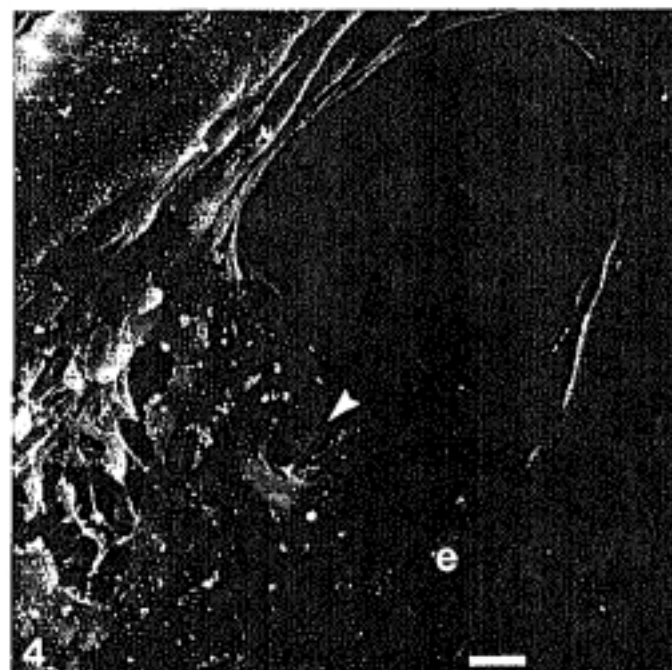
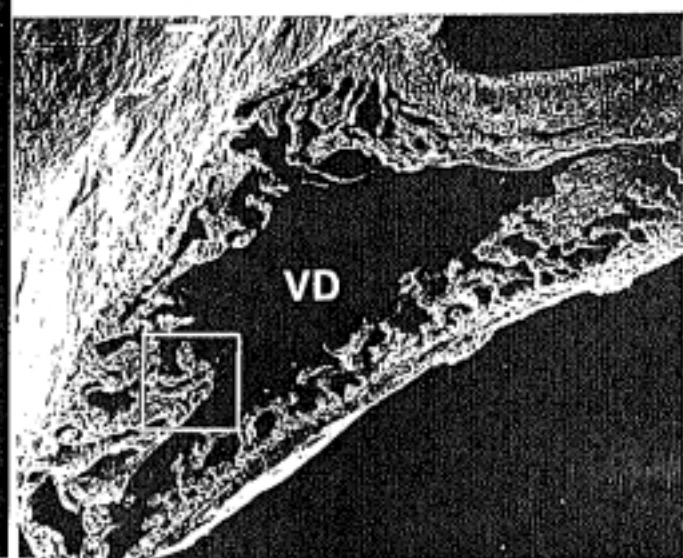
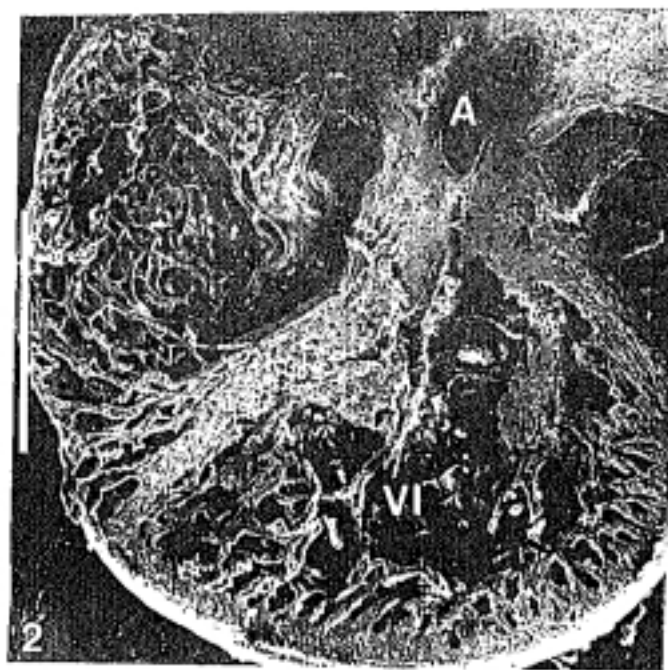
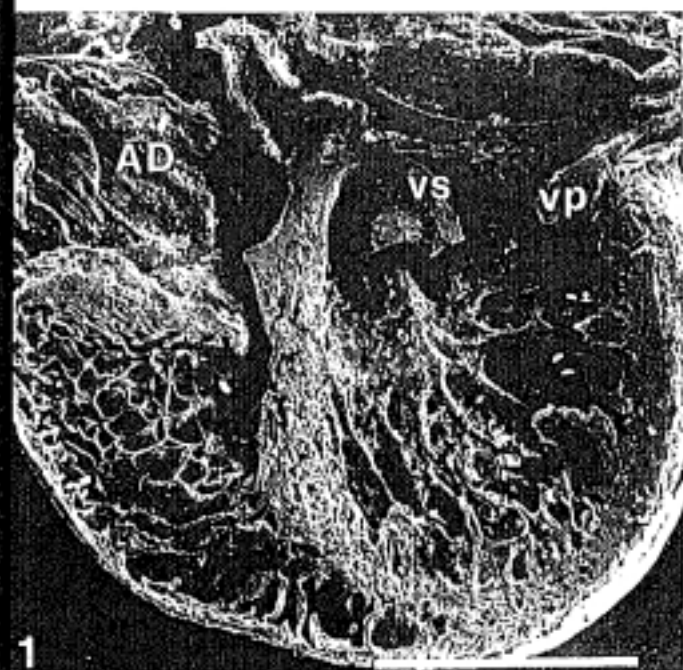
Foto 7 . — Detalle de la zona enmarcada en la foto 5.

Barra: 100 μ m.

Foto 8 . — Detalle a mayor aumento de la foto 7.

e: endocardio; m: miocardio.

Barra: 10 μ m.



6.- Embriones operados en el E 25 HH: ↑ 25%.

Han sido intervenidos 41 embriones (TABLA 14) de los que:

- 4 → MO.
- 10 → MEB.
- 16 (+).
- 11 n.c.

a) Mortalidad.

De los 30 embriones considerados, 16 murieron, lo que supone una mortalidad del 53'3%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 30 embriones considerados sólo el embrión Mo 83 presentaba malformaciones morfológicas externas (TABLA 40), lo que supone un 3'3%. Fue fijado vivo y procesado para su estudio a MEB. Presentaba:

- Ectopia cordis.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 10 → MEB considerados, 5 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 50%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 41):

- Embrión Mo 72 (LAMINA 53: Foto 4):

- Cardiopatía dilatada del ventrículo izquierdo. Se ha producido una alteración en las dimensiones del ventrículo izquierdo. Ha aumentado su eje transversal, aunque sigue predominando el eje longitudinal respecto al *septum interventriculare*.

- Embrión Mo 81 (LAMINA 53: Foto 3):

- Cardiopatía dilatada del ventrículo izquierdo. Ha aumentado su eje transversal respecto al *septum interventriculare*, aunque continúa predominando el eje longitudinal. Apenas se observan trabéculas. En su mayoría se han adosado a las paredes ventriculares.

- Embrión Mo 83 (LAMINA 53: Fotos 1 y 2):

- Alteración en el patrón trabecular de ambos ventrículos. En el ventrículo derecho se observan numerosos cordones trabeculares y un retraso en el proceso de compactación trabecular. El ventrículo izquierdo presenta una serie de cordones trabeculares entre sus láminas trabeculares.

- Embrión Mo 156:

- Retraso en el proceso de trabeculización, fundamentalmente en la compactación de las trabéculas.

- Embrión Mo 179 (LAMINA 53: Foto 5 y 6):

- Alteración en la remodelación del infundíbulo aórtico que presenta una serie de depresiones endocárdicas en su pared posterior.

TABLA 40 .

**MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
25 HH: ↑ 25% .**

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 83	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; **Mx.**: maxilar;
Md.: mandíbula; **ES**: extremidades superiores; **EI**: extremidades
inferiores; **Trx.**: tórax; **Abd.**: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 41 .

**MALFORMACIONES CARDIACAS PRESEN-
TADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS
EN EL ESTADIO 25 HH: ↑ 25% .**

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 72	-	*	-
Mo 81	-	*	-
Mo 83	*	-	-
Mo 156	*	-	-
Mo 179	*	-	-

LAMINA 53 .

Foto 1 .— Embrión **Mo 83** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 .— Detalle del ventrículo izquierdo observado en la foto 1.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 100 μm .

Foto 3 .— Embrión **Mo 81** (E 36 HH) cortado parasagitalmente por su lado izquierdo, fragmento derecho, visión izquierda.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 4 .— Embrión **Mo 72** (E 36 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

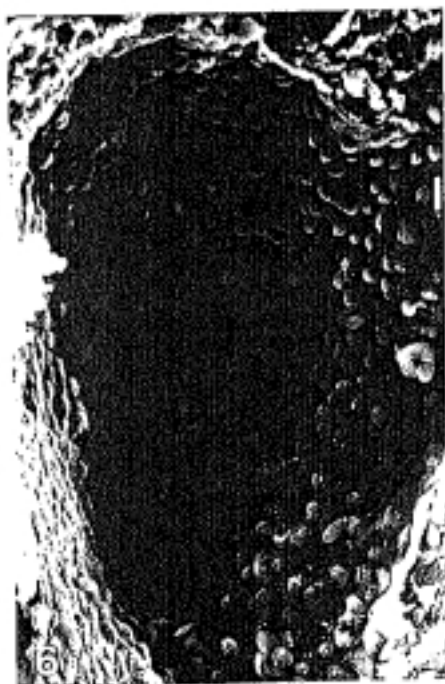
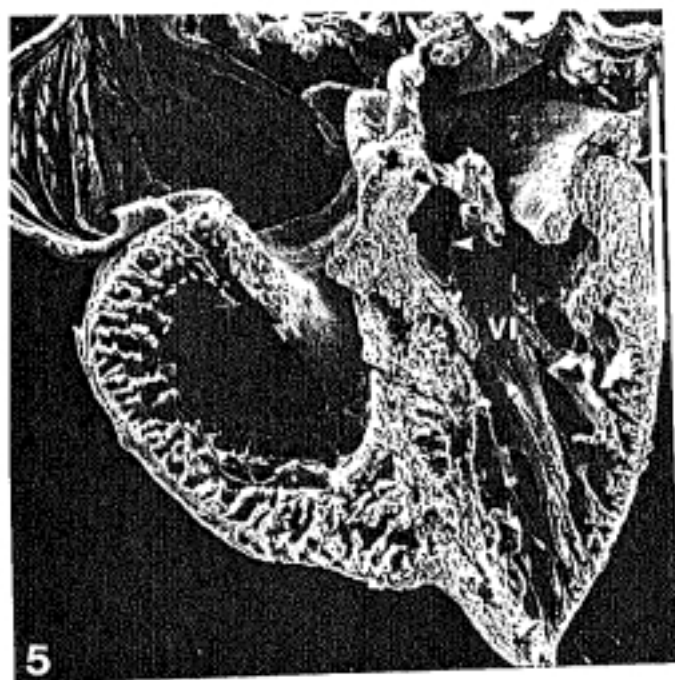
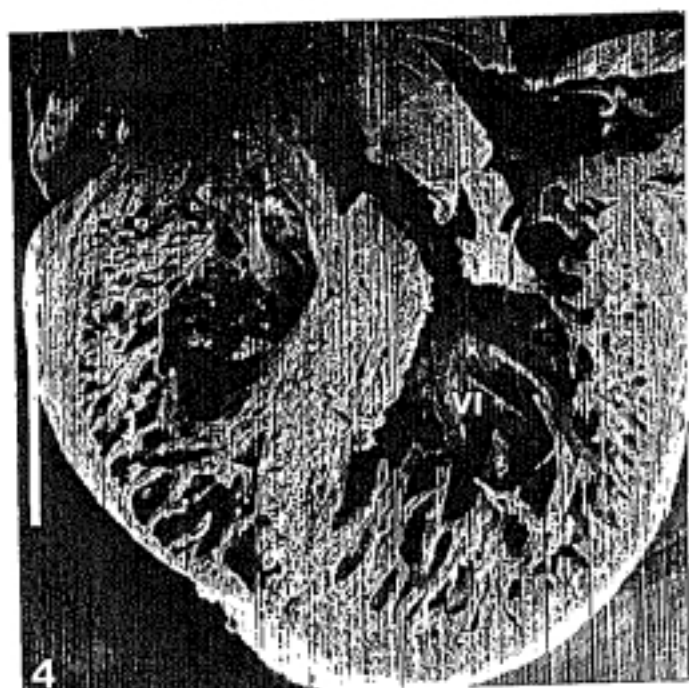
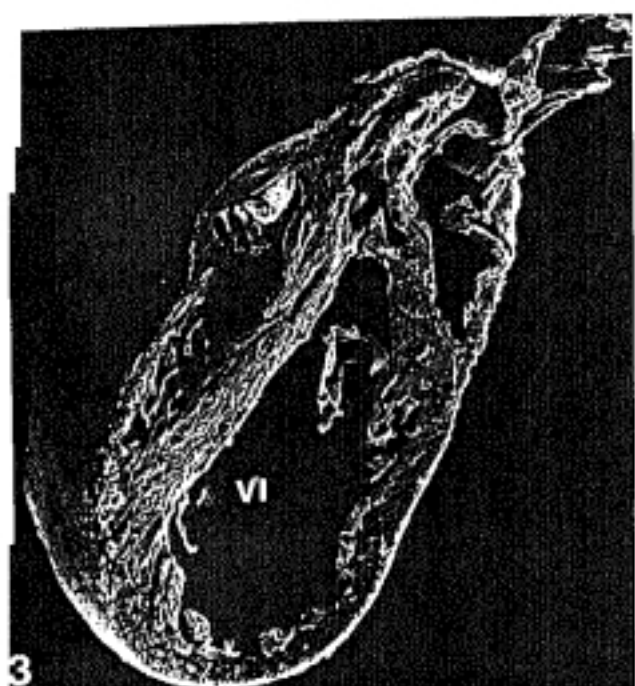
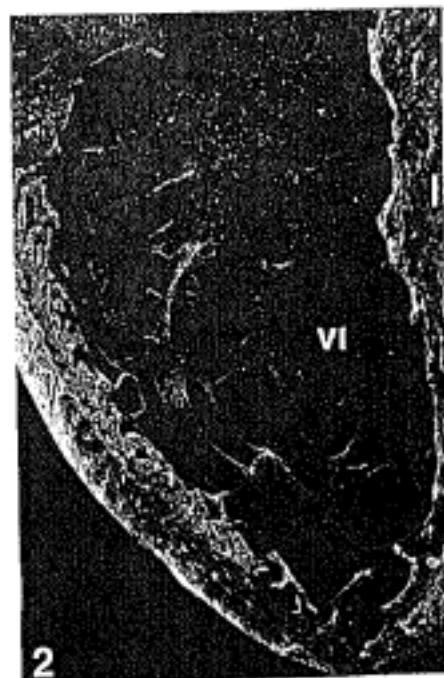
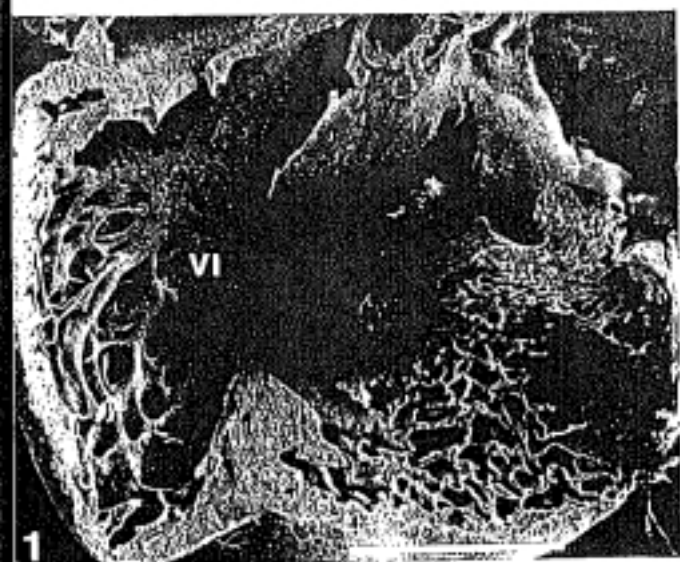
Foto 5 .— Embrión **Mo 179** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral. Pared posterior del infundíbulo aórtico (Punta de flecha).

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 6 .— Detalle de la pared posterior del infundíbulo aórtico señalado en la foto 5 por una punta de flecha.

Barra: 10 μm .



7.- Embriones operados en el E 29 HH: ↑ 7%.

Han sido intervenidos 25 embriones (TABLA 15) de los que:

- 5 → MO.
- 12 → MEB.
- 5 (+).
- 3 n.c.

a) Mortalidad.

De los 22 embriones considerados, 5 murieron, lo que supone una mortalidad del 22'7%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 22 embriones considerados, 4 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 18'1%.

De estos 4 embriones malformados fueron fijados vivos los 4.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 42):

- Embrión Mo 126 (E 35 HH) → MEB:

- Celosomía abdominal.

- Embrión Mo 161 (E 35 HH) → MO (LAMINA 54: Fotos 5, 6, 7

y 8):

- Microftalmía izquierda.
 - Desviación de pico.

- Ausencia total de cola.

- Embrión Mo 162 (E 35 HH) → MO (LAMINA 54: Fotos 1, 2, 3 y 4):

- Microftalmía derecha e izquierda.
- Desviación de pico asociada a hipoplasia del maxilar.
- Retraso en el desarrollo de las extremidades superiores e inferiores.

- Celosomía abdominal.

- Ausencia total de cola.

- Embrión Mo 166 (E 35 HH) → MEB:

- Microftalmía izquierda.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 12 → MEB considerados, 5 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 41'6%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 43):

- Embrión Mo 125:

- Cardiopatía dilatada del ventrículo izquierdo.
- Alteración del patrón trabecular del ventrículo izquierdo. Presenta trabéculas muy finas adosadas a las paredes del ventrículo.

- Embrión Mo 126 (LAMINA 55: Fotos 1, 2 y 3):

- Cardiopatía dilatada del ventrículo izquierdo. Nótese la delgadez de su pared libre, así como la del *septum interventriculare*.

- Alteración del patrón trabecular de ambos ventrículos. El ventrículo derecho presenta numerosas trabéculas

delgadas y finas en la luz del ventrículo, así como un defecto en la compactación trabecular. El ventrículo izquierdo presenta numerosas trabéculas delgadas y aplanadas, adosadas a las paredes del ventrículo, y sin orientación.

- Embrión **Mo 139 (LAMINA 55: Foto 4):**

• Cardiopatía dilatada del ventrículo izquierdo.

- Embrión **Mo 165 (LAMINA 55: Fotos 5, 6 y figura 7):**

• Comunicación interinfundibular por defecto de desarrollo del rodete izquierdo.

- Embrión **Mo 166 (LAMINA 56: Fotos 1 y 2):**

• Alteración del patrón trabecular del ventrículo izquierdo. Presenta trabéculas grandes y aplanadas adosadas a las paredes del ventrículo.

TABLA 42 .

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
29 HH: ↑ 7% .

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 126	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Mo 161	-	*	-	*	*	-	-	-	-	*
Mo 162	-	*	*	*	*	*	*	-	*	*
Mo 166	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 43 .

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESENTADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO 29 HH: ↑ 7% .

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 125	*	*	-
Mo 126	*	*	-
Mo 139	-	*	-
Mo 166	*	-	-

LAMINA 54 .

Foto 1 .— Embrión **Mo 162** (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 6'3.

Foto 2 .— Embrión **Mo 162** (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 6'3.

Foto 3 .— Detalle de la foto 1 x 8.

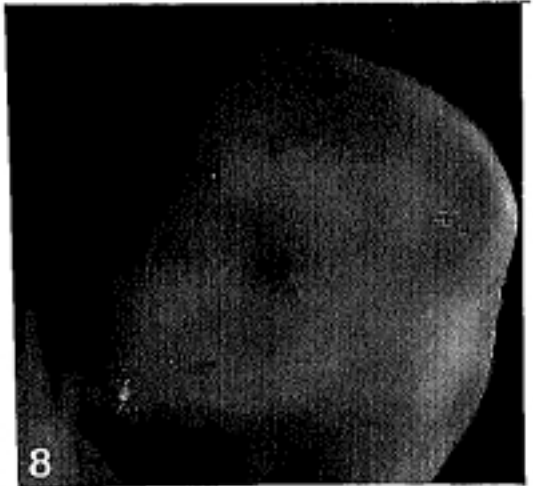
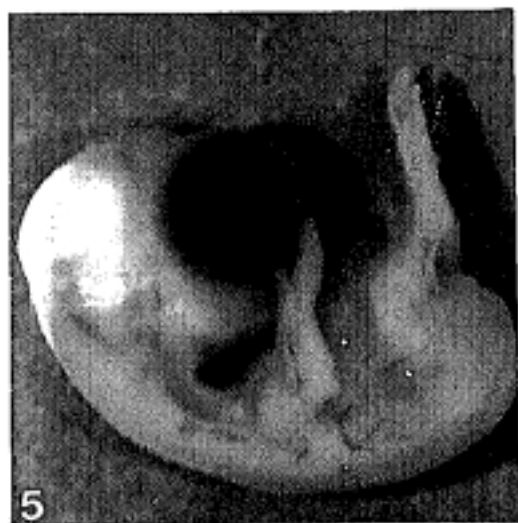
Foto 4 .— Detalle de la foto 2 x 8.

Foto 5 .— Embrión **Mo 161** (E 35 HH). Visión lateral derecha de la cabeza x 6'3.

Foto 6 .— Embrión **Mo 161** (E 35 HH). Visión lateral izquierda de la cabeza x 6'3.

Foto 7 .— Detalle de la foto 6 x 8.

Foto 8 .— Detalle de la foto 6 x 8.



LAMINA 55 .

Foto 1 . — Embrión **Mo 126** (E 35 HH), cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda.

Barra: 1000 μm .

Foto 2 . — Detalle trabéculas del ventrículo izquierdo de la foto 1.

Barra: 100 μm .

Foto 3 . — Detalle trabéculas del ventrículo derecho de la foto 1.

Barra: 100 μm .

Foto 4 . — Embrión **Mo 139** (E 35 HH) cortado parasagitalmente por su lado izquierdo, fragmento derecho, visión izquierda.

VD: ventrículo derecho; **VI:** ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μm .

Foto 5 . — Embrión **Mo 165** (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

AD: aurícula derecha; **AI:** aurícula izquierda; **IA:** infundíbulo aórtico.

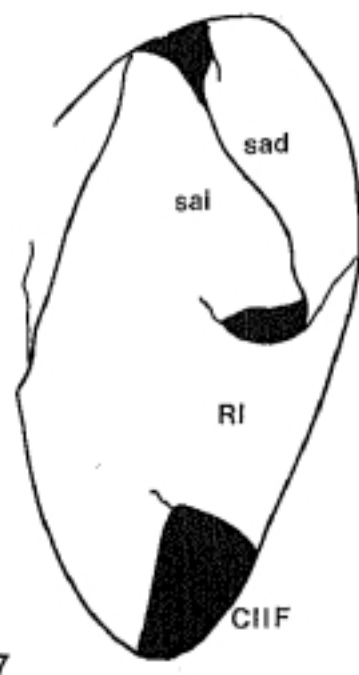
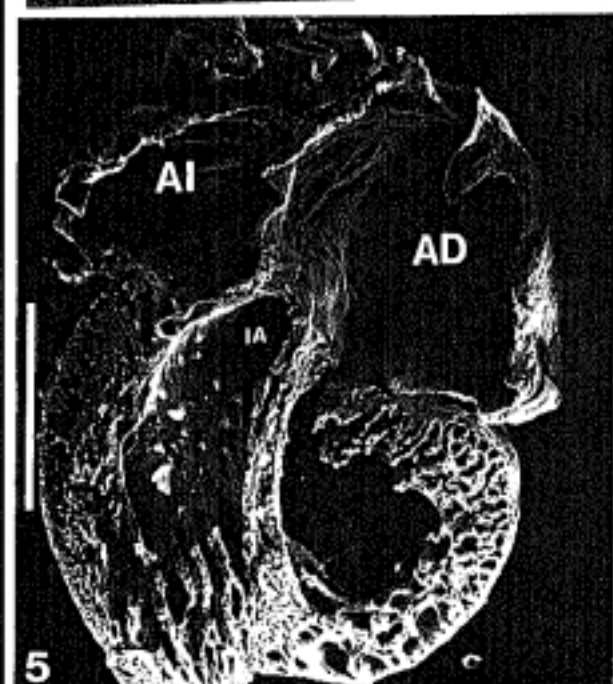
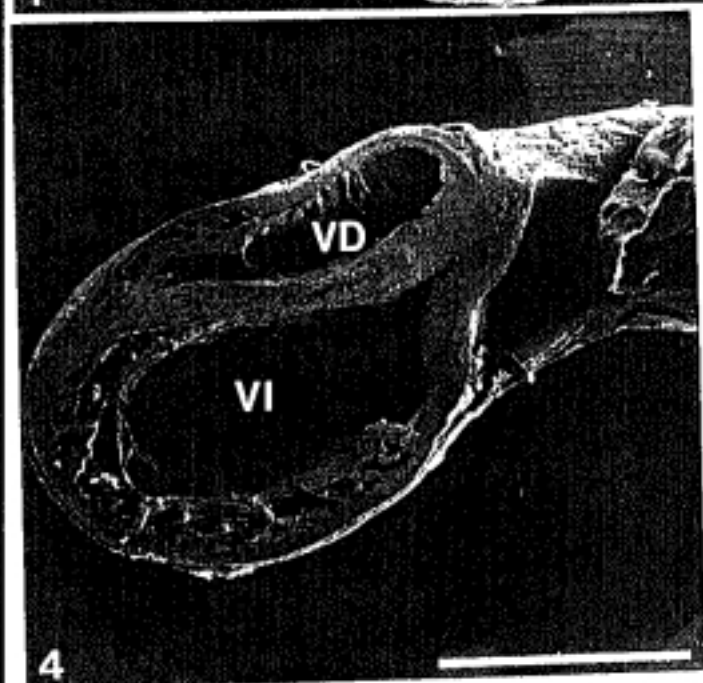
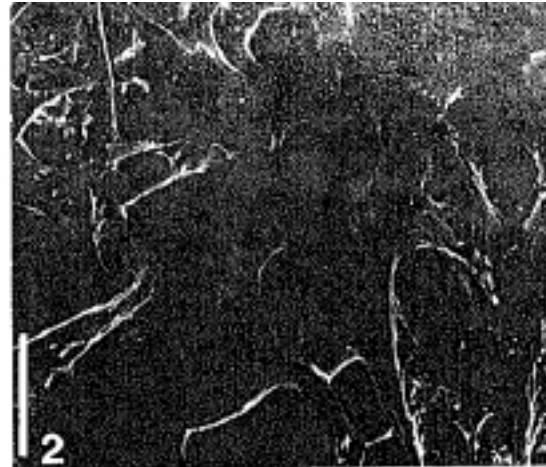
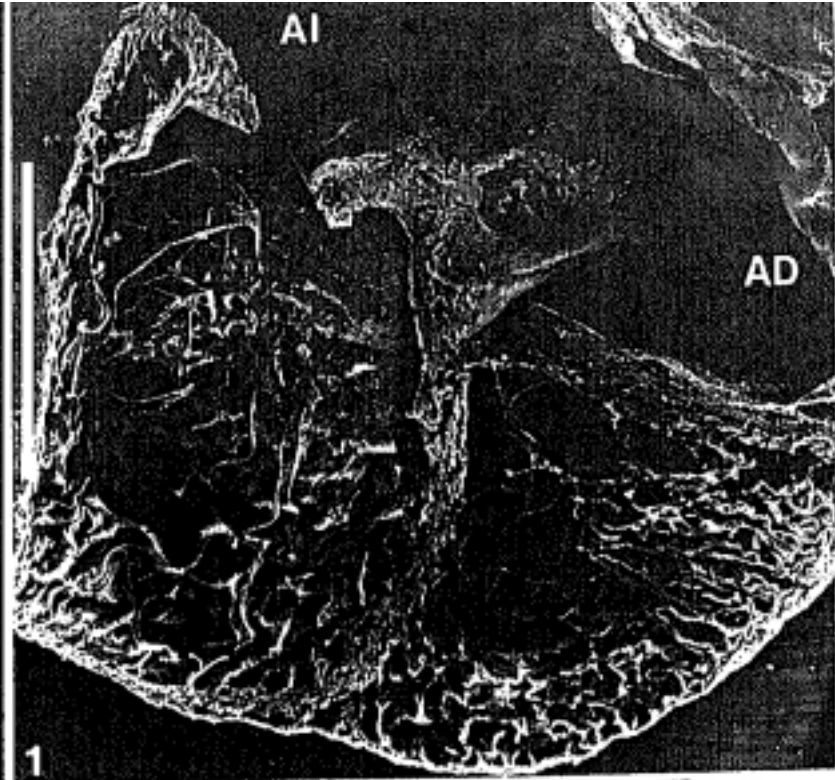
Barra: 1000 μm .

Foto 6 "sacada directamente de la pantalla". — Detalle del infundíbulo aórtico de la foto 5.

Barra: 100 μm .

Figura 7 . — Representación esquemática foto 6.

CIIF: comunicación interinfundibular; **RI:** rodete izquierdo; **sai:** sigmoidea aórtica izquierda; **sad:** sigmoidea aórtica derecha.



LAMINA 56.

Foto 1. — Embrión Mo 166 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

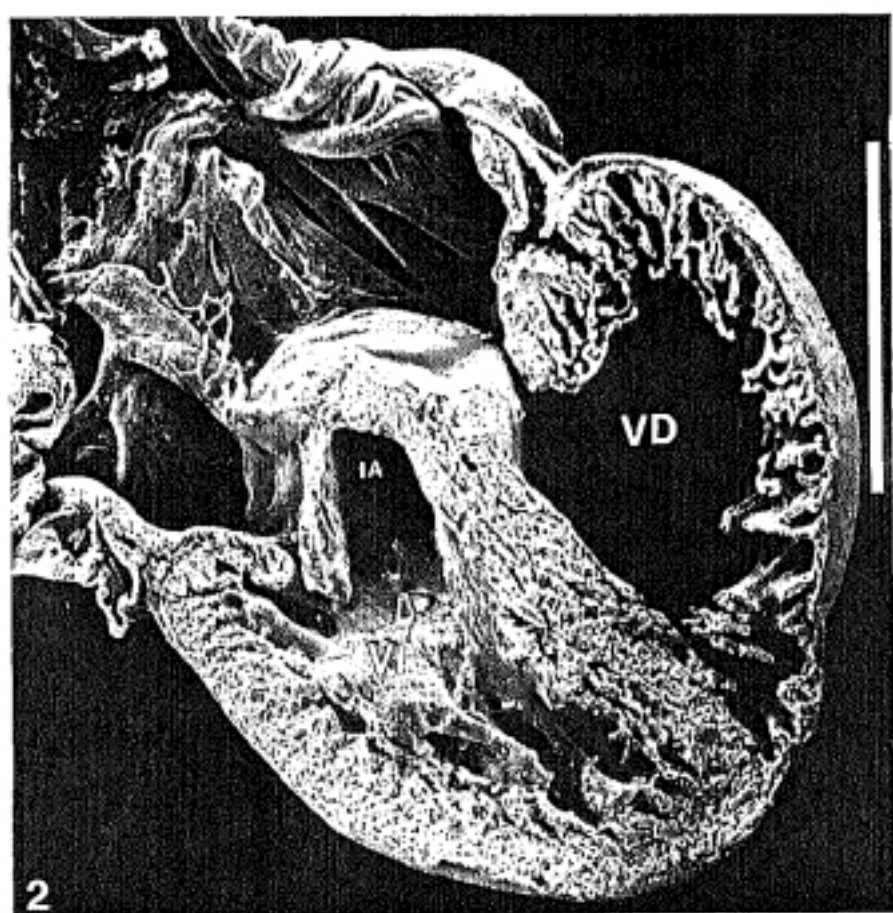
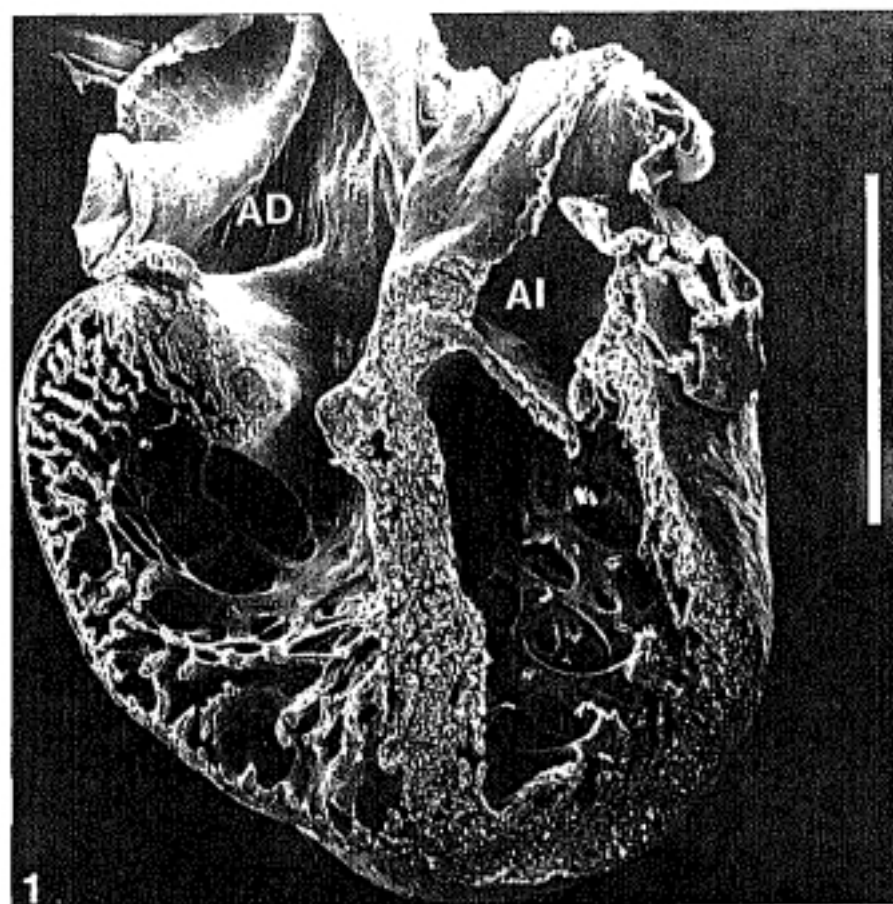
AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión Mo 166 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

IA: infundíbulo aórtico; VD: ventrículo derecho; VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μ m.



8.- Embriones operados en el E 29 HH: ↑ 15%.

Han sido intervenidos 24 embriones (TABLA 16) de los que:

- 5 → M0.
- 12 → MEB.
- 7 (+).

a) Mortalidad.

De los 24 embriones considerados, 7 murieron, lo que supone una mortalidad del 29'1%.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 24 embriones considerados, 3 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un 12'5%.

De estos 3 embriones malformados fueron fijados vivos los 3.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 44):

- Embrión Mo 194 (E 35 HH) → MEB:
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión Mo 196 (E 35 HH) → M0 (LAMINA 57: Fotos 1 y 2):
 - Celosomía abdominal.
 - Ausencia total de cola.

- Embrión Mo 198 (E 35 HH) → MO (LAMINA 57: Fotos 3 y 4):

- Pico hipoplásico.

- Retraso en el desarrollo de las extremidades superiores e inferiores.

- Síndrome de cola corta incipiente.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 12 → MEB considerados, 2 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un 16'6%.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 45):

- Embrión Mo 191 (LAMINA 58: Fotos 1 y 2):

- Alteración del patrón trabecular del ventrículo derecho. Presenta unas trabéculas grandes y aplanadas.

- Embrión Mo 202 (LAMINA 58: Fotos 3 y 4):

- Retraso en el proceso de trabeculización del ventrículo derecho. El infundíbulo pulmonar se observa trabeculado.

TABLA 44 .

**MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
29 HH: ↑ 15% .**

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Mo 196	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
Mo 198	-	-	-	*	*	*	*	-	-	*

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 45 .

**MALFORMACIONES CARDIACAS PRESEN-
TADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS
EN EL ESTADIO 29 HH: ↑ 15 .**

	Alteración del proc. de trab.	Cardiopatía dilatada	Cardiopatía hipertrófica
Mo 191	*	-	-
Mo 202	*	-	-

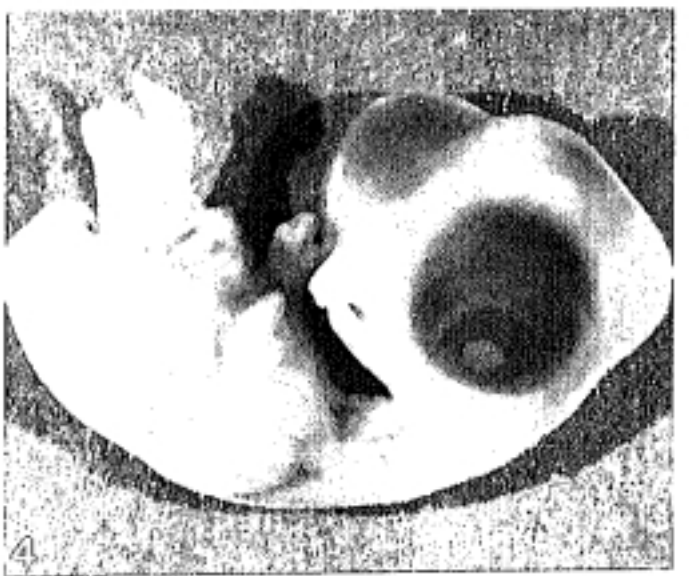
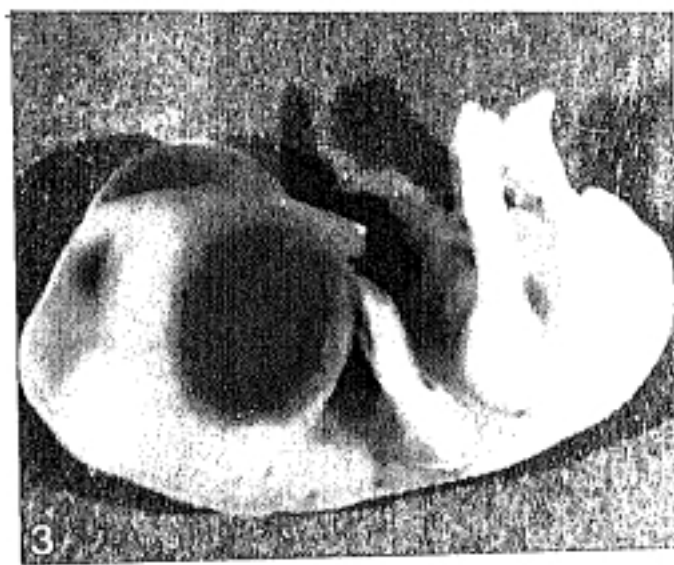
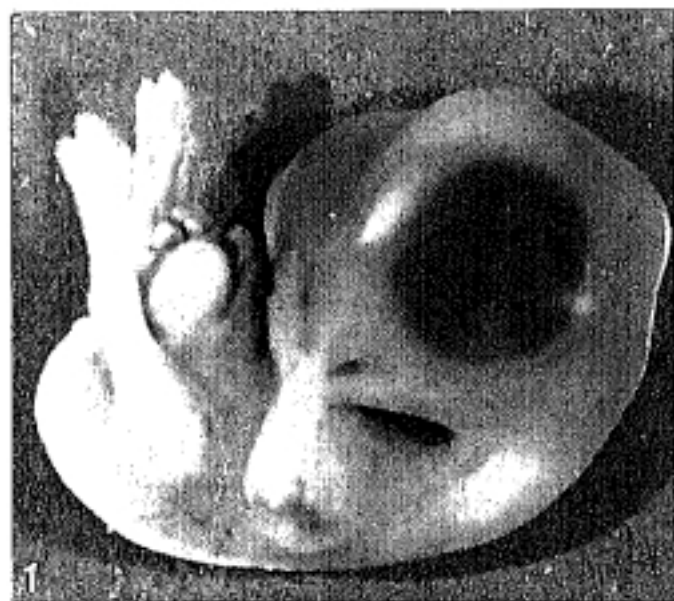
LAMINA 57.

Foto 1. — Embrión **Mo 196** (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 6'3.

Foto 2. — Detalle de la foto 1 x 8.

Foto 3. — Embrión **Mo 198** (E 35 HH). Visión lateral derecha del embrión x 6'3.

Foto 4. — Embrión **Mo 198** (E 35 HH). Visión lateral izquierda del embrión x 6'3.



LAMINA 58.

Foto 1. — Embrión Mo 191 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

VI: ventrículo izquierdo.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión Mo 191 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

VD: ventrículo derecho.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3. — Embrión Mo 202 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

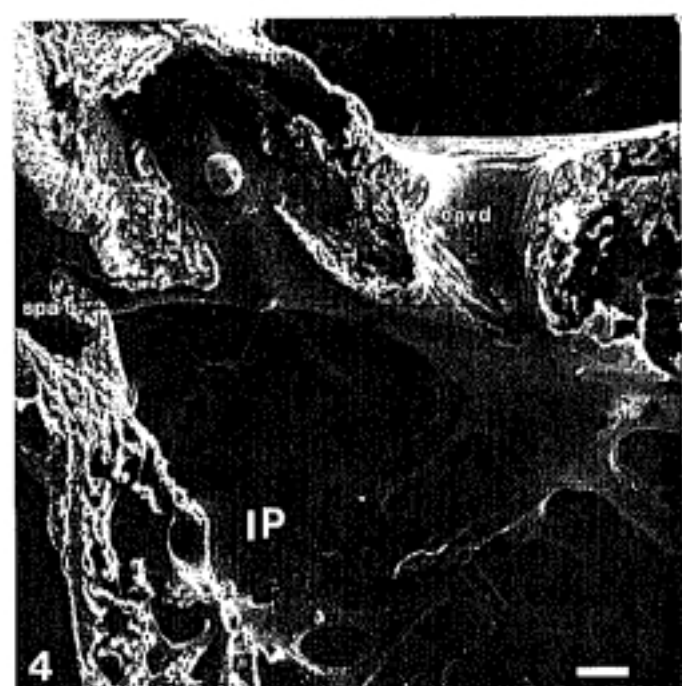
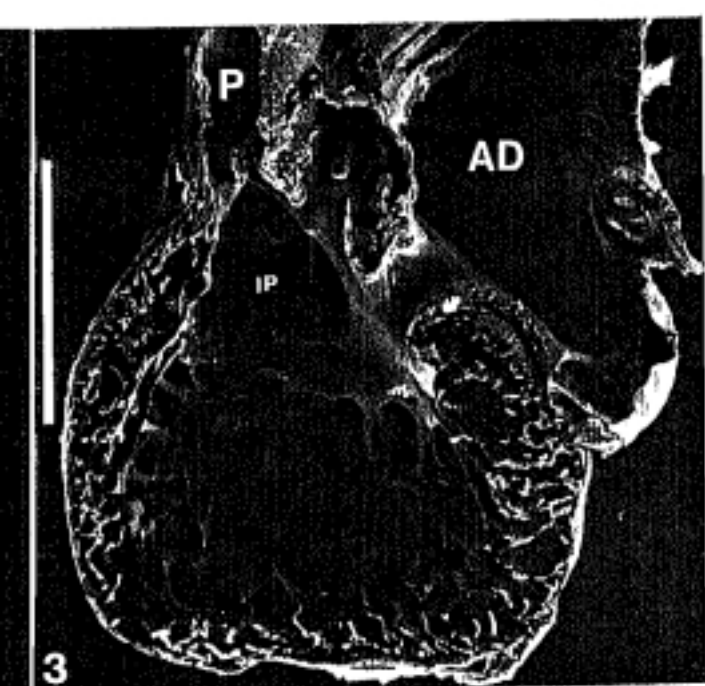
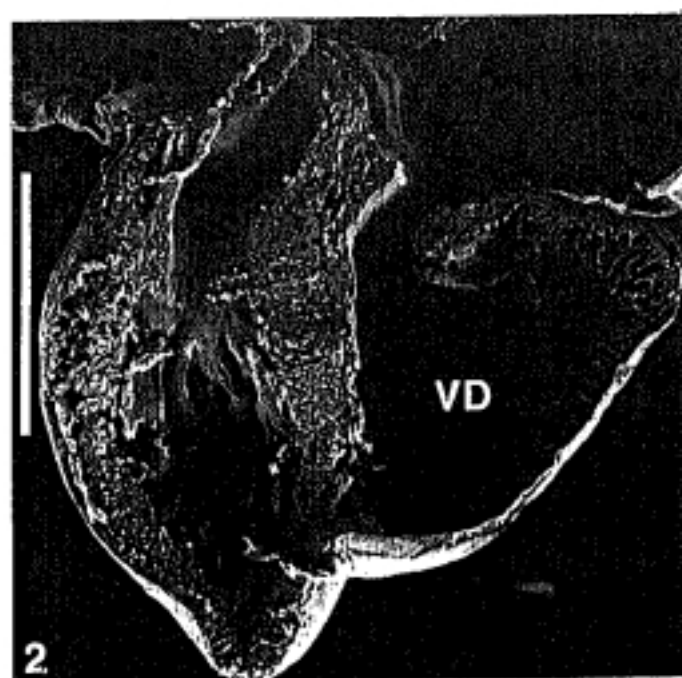
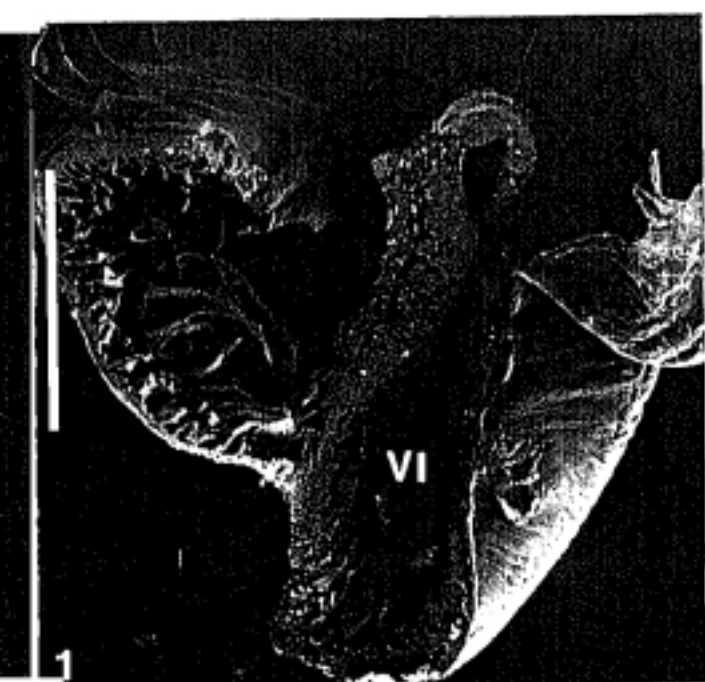
AD: aurícula derecha; IP: infundíbulo pulmonar; P: arteria pulmonar.

Barra: 1000 μ m.

Foto 4. — Detalle del infundíbulo pulmonar de la foto 3.

oavd: orificio auriculoventricular derecho; IP: infundíbulo pulmonar; spa: sigmoidea pulmonar anterior.

Barra: 100 μ m.



9.- Embriones operados en el E 29 HH: ↑ 25%.

Han sido intervenidos 27 embriones (TABLA 17) de los que:

- 5 → MO.
- 8 → MEB.
- 12 (+).
- 2 n.c.

a) Mortalidad.

De los 25 embriones considerados, 12 murieron, lo que supone una mortalidad del **48%**.

b) Malformaciones morfológicas externas.

De los 25 embriones considerados, 16 presentaban malformaciones morfológicas externas, lo que supone un **64%**.

De estos 16 embriones malformados fueron fijados vivos 12.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (TABLA 46):

- Embrión **Mo 214** (E 35 HH) → MO (LAMINA 59: Fotos 1 y 2):
 - Microftalmía izquierda.
 - Pico hipoplásico.
 - Retraso en el desarrollo de las extremidades superiores e inferiores.
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Ausencia total de cola.

- Embrión **Mo 215** (E 35 HH) → MO:
 - Ectopia cordis.
- Embrión **Mo 216** (E 35 HH) → MO:
 - Mandíbula hipoplásica.
- Embrión **Mo 233** (E 35 HH) → MEB (**LAMINA 59: Fotos 3 y 4**):
 - Pico hipoplásico.
 - Retraso en el desarrollo de las extremidades superiores e inferiores.
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mo 235** (E 35 HH) → MEB:
 - Pico hipoplásico.
 - Ectopia cordis.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mo 245** (+):
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión **Mo 247** (+):
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión **Mo 255** (E 35 HH) → MO:
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mo 256** (+):
 - Microftalmía izquierda.
 - Celosomía tóracoabdominal.
- Embrión **Mo 257** (E 35 HH) → MEB:
 - Ectopia cordis.

- Embrión **Mo 258** (E 35 HH) → MEB (**LAMINA 59: Fotos 5 y 6**):
 - Pico hipoplásico.
 - Celosomía tóracoabdominal.
 - Síndrome de cola corta marcado.
- Embrión **Mo 259** (E 35 HH) → MEB:
 - Ectopia cordis.
- Embrión **Mo 261** (+):
 - Celosomía tóracoabdominal.
- Embrión **Mo 262** (E 35 HH) → MEB:
 - Ectopia cordis.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mo 263** (E 35 HH) → MEB:
 - Ectopia cordis.
 - Ausencia total de cola.
- Embrión **Mo 264** (E 35 HH) → MEB:
 - Ectopia cordis.

c) Malformaciones cardíacas.

De los 8 → MEB considerados, 4 presentaron algún tipo de malformación cardíaca, lo que supone un **50%**.

Las malformaciones presentadas por cada uno de los embriones afectados fueron las siguientes (**TABLA 47**):

- Embrión Mo 257:

- Retraso en el proceso de trabeculización del ventrículo izquierdo. Presenta numerosas láminas trabeculares delgadas. En el infundíbulo aórtico se aprecia el endocardio deprimido.

- Embrión Mo 259 (LAMINA 60: Figura 5, fotos 6 y 7):

- Comunicación interinfundibular por un defecto en la disposición del rodete izquierdo.

- Embrión Mo 262 (LAMINA 60: Fotos 3 y 4):

- Alteración del patrón trabecular de ambos ventrículos. Compárese con el embrión Mo 258 (LAMINA 60: Foto 1) que presenta un patrón trabecular totalmente normal.

- Embrión Mo 263 (LAMINA 60: Foto 2):

- Retraso en el proceso de trabeculización del ventrículo derecho, básicamente en la compactación de las trabéculas.

TABLA 46.

MALFORMACIONES MORFOLOGICAS EX-
TERNAS PRESENTADAS POR LOS EM-
BRIONES OPERADOS EN EL ESTADIO
29 HH: ↑ 25%.

	Ecf.	OI	OD	Mx.	Md.	ES	EI	Trx.	Abd.	Cola
Mo 214	-	*	-	*	*	*	*	*	*	*
Mo 215	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
Mo 216	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
Mo 233	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*
Mo 235	-	-	-	*	*	-	-	*	-	*
Mo 245	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
Mo 247	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
Mo 255	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
Mo 256	-	*	-	-	-	-	-	*	*	-
Mo 257	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
Mo 258	-	-	-	*	*	-	-	*	*	*
Mo 259	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
Mo 261	-	-	-	-	-	-	-	*	*	-
Mo 262	-	-	-	-	-	-	-	*	-	*
Mo 263	-	-	-	-	-	-	-	*	-	*
Mo 264	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-

Ecf.: encéfalo; OI: ojo izquierdo; OD: ojo derecho; Mx.: maxilar;
Md.: mandíbula; ES: extremidades superiores; EI: extremidades
inferiores; Trx.: tórax; Abd.: abdomen; -: no presenta la
malformación; *: presenta la malformación.

TABLA 47 .

MALFORMACIONES CARDIACAS PRESEN-
TADAS POR LOS EMBRIONES OPERADOS
EN EL ESTADIO 29 HH: ↑ 25 .

	Alteración del	Cardiopatía	Cardiopatía
	proc. de trab.	dilatada	hipertrófica
Mo 257	*	-	-
Mo 262	*	-	-
Mo 263	*	-	-

LAMINA 59.

Foto 1. — Embrión Mo 214 (E 35 HH). Visión craneal de la cabeza x 12'5.

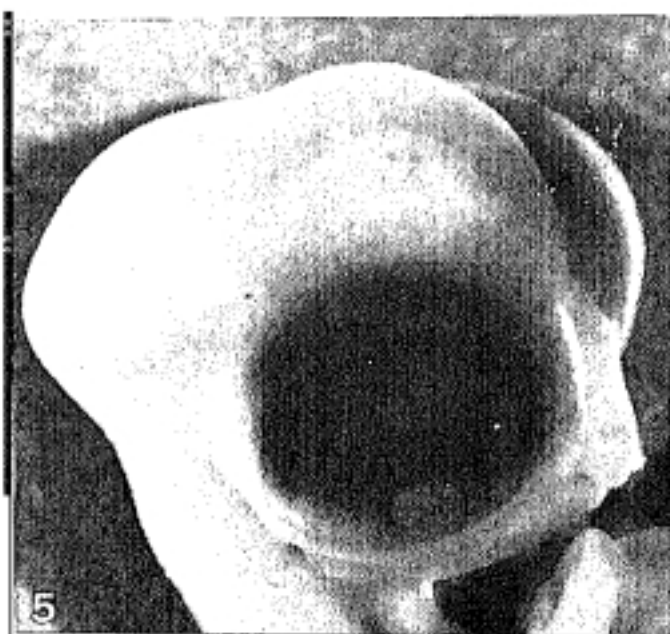
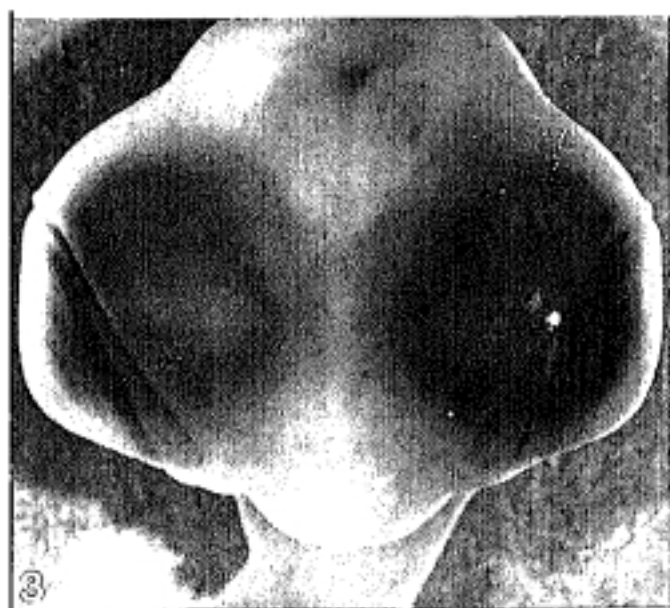
Foto 2. — Embrión Mo 214 (E 35 HH). Visión lateral izquierda del tronco x 8.

Foto 3. — Embrión Mo 233 (E 35 HH). Visión craneal de la cabeza x 12'5.

Foto 4. — Embrión Mo 233 (E 35 HH). Visión ventral del tronco x 8.

Foto 5. — Embrión Mo 258 (E 35 HH). Visión lateral derecha de la cabeza x 12'5.

Foto 6. — Embrión Mo 258 (E 35 HH). Visión lateral derecha del tronco x 8.



LAMINA 60.

Foto 1. — Embrión Mo 258 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

Barra: 1000 μ m.

Foto 2. — Embrión Mo 263 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; siv: *septum interventriculare*; oavi: orificio auriculoventricular izquierdo.

Barra: 1000 μ m.

Foto 3. — Embrión Mo 262 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento dorsal, visión ventral.

AD: aurícula derecha; AI: aurícula izquierda.

Barra: 1000 μ m.

Foto 4. — Embrión Mo 262 (E 35 HH) cortado frontalmente, fragmento ventral, visión dorsal.

Barra: 1000 μ m.

Figura 5. — Representación esquemática foto 6.

oavd: orificio auriculoventricular derecho; CIIF: comunicación interinfundibular; IA: infundíbulo aórtico; P: arteria pulmonar; RI: rodete izquierdo.

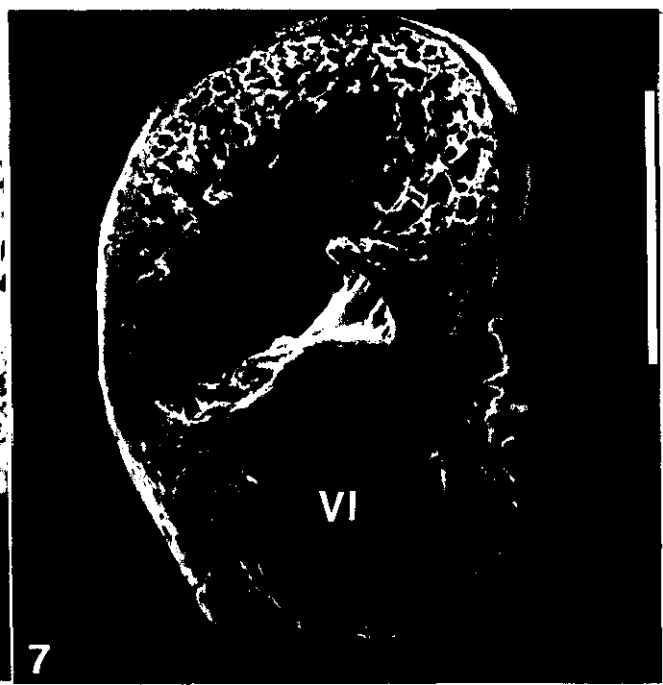
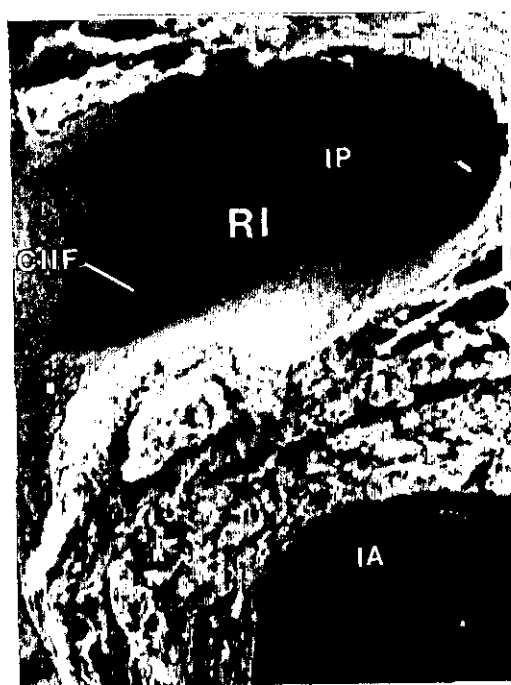
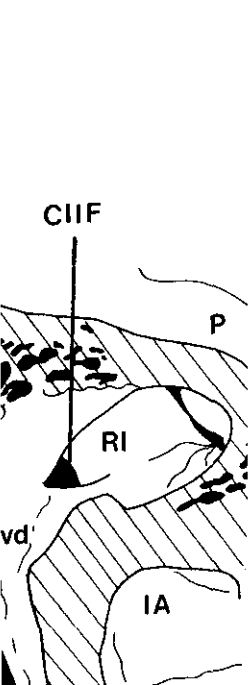
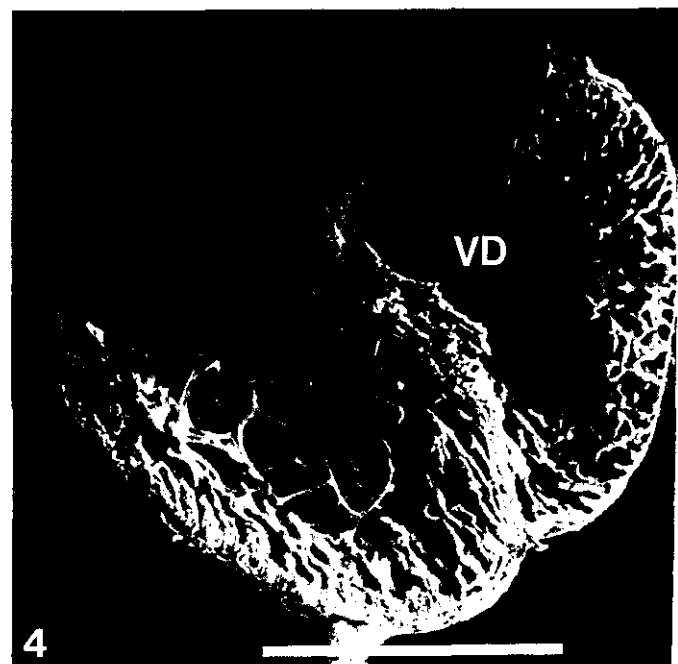
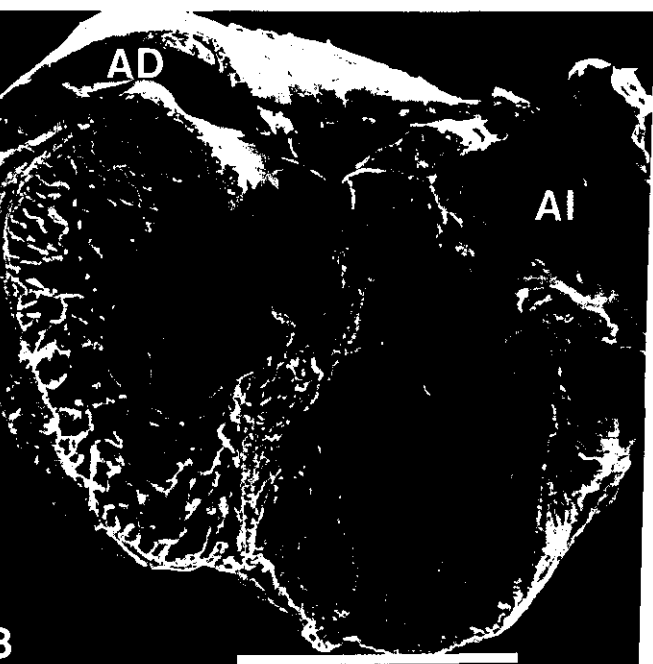
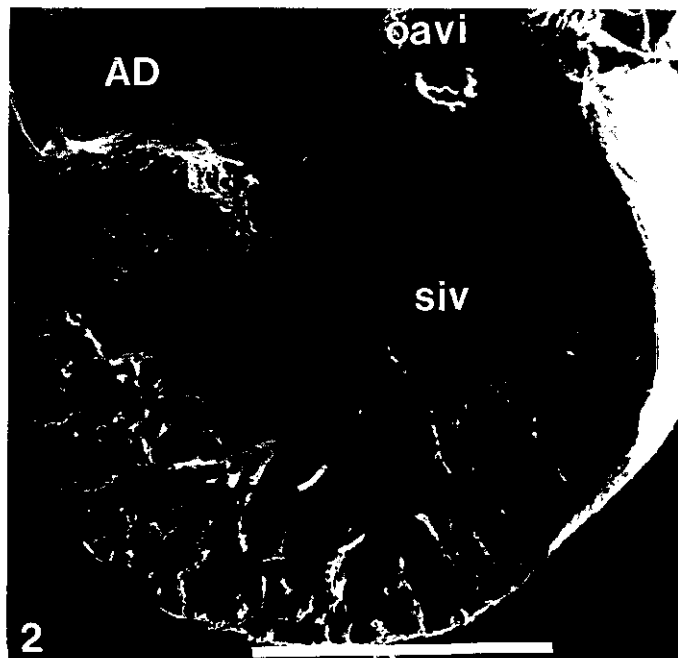
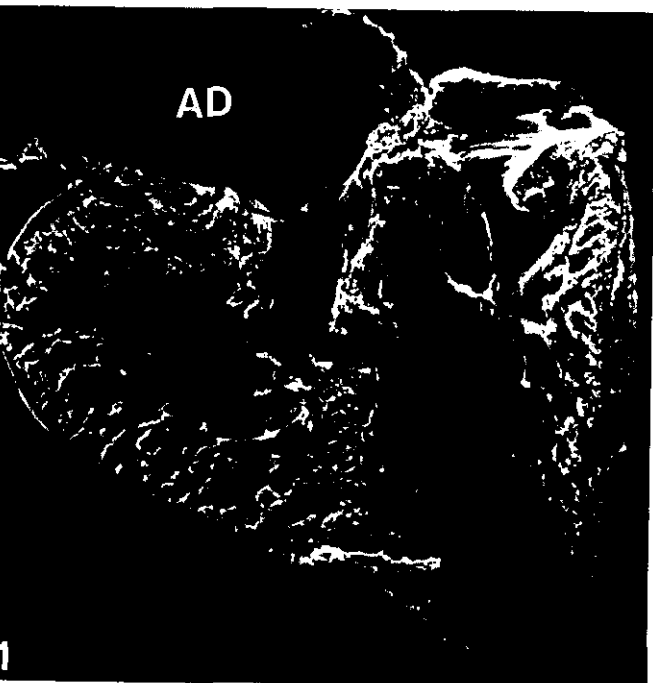
Foto 6 "sacada directamente de la pantalla". — Embrión Mo 259 (E 35 HH) cortado transversalmente. Detalle del fragmento basal, visión caudal.

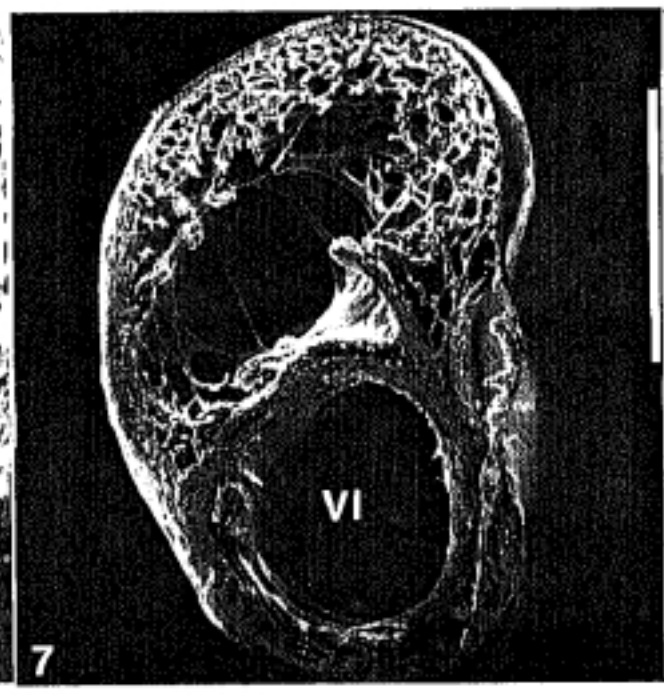
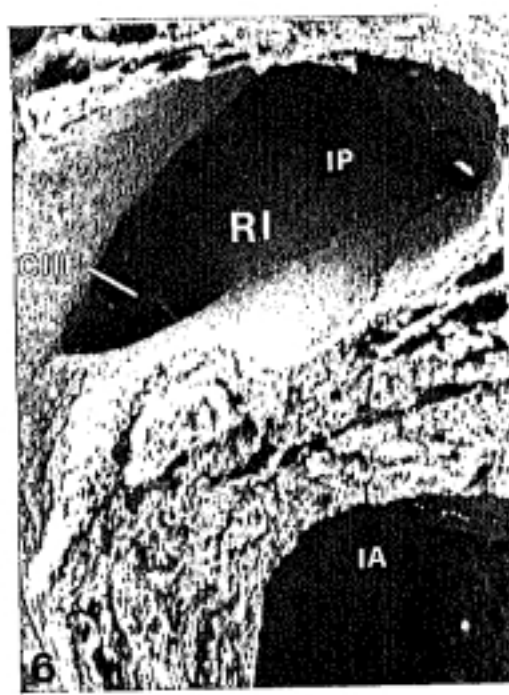
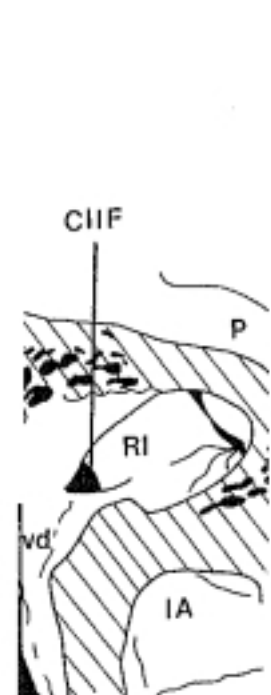
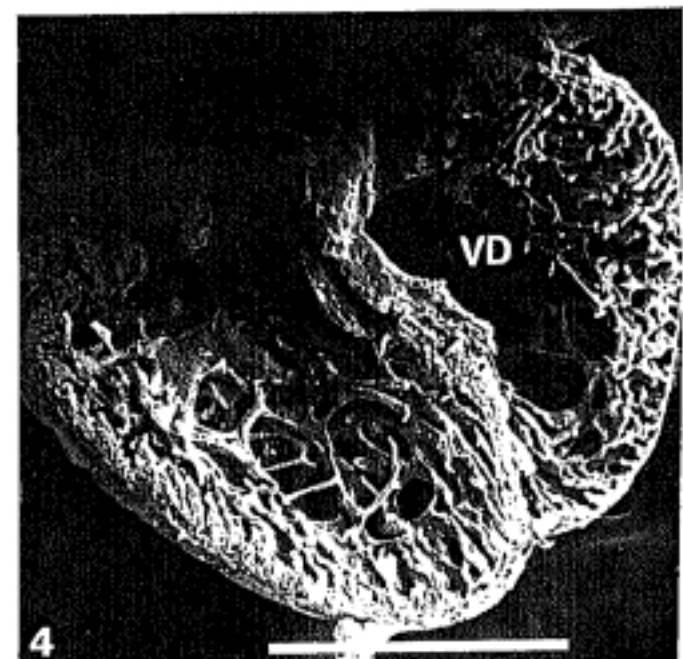
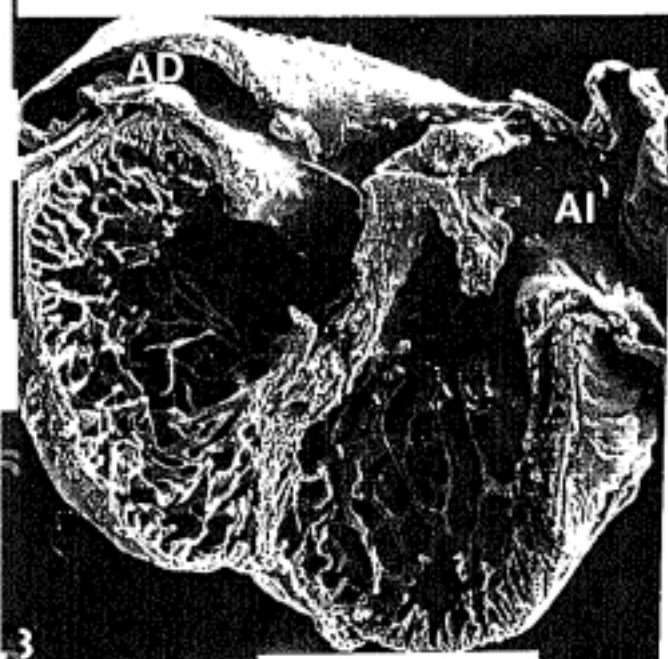
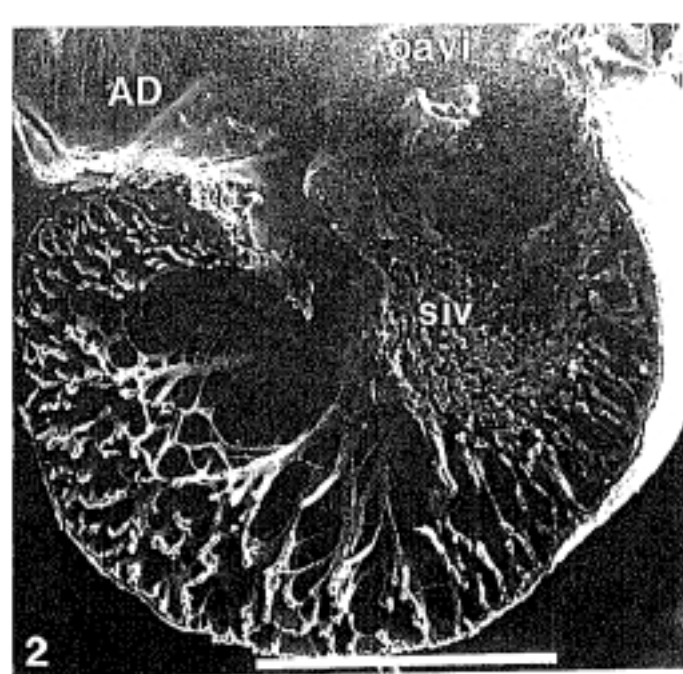
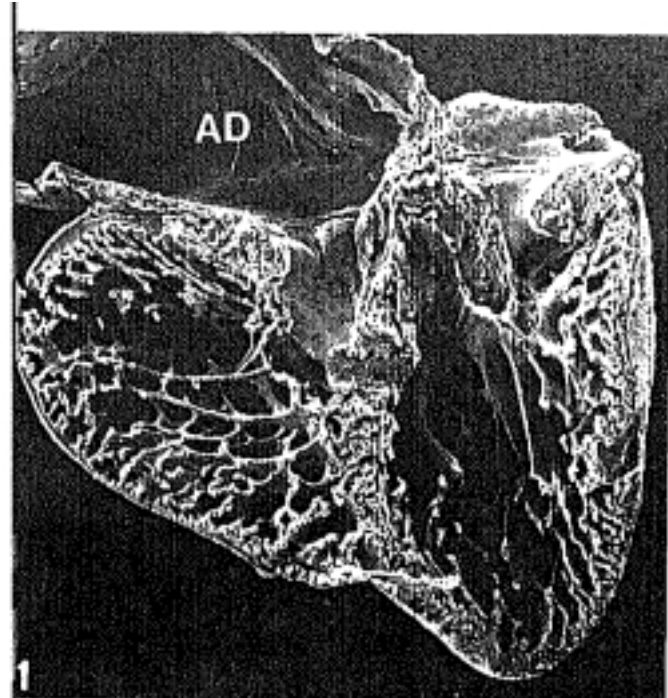
CIIF: comunicación interinfundibular; IA: infundíbulo aórtico; IP: infundíbulo pulmonar; RI: rodete izquierdo.

Barra: 100 μ m.

Foto 7. — Embrión Mo 259 (E 35 HH) cortado transversalmente, fragmento apical, visión craneal.

Barra: 1000 μ m.





DISCUSSION

I . CONTROLES DE MEB .

Puesto que en el presente trabajo nos propusimos estudiar los corazones desde un punto de vista meramente morfológico y no ultraestructural, no nos planteamos el realizar una fijación específica para el estudio de la matriz extracelular o una postfijación con tetraóxido de osmio.

Sin embargo, una vez analizado el material obtenido, podemos destacar la mayor utilidad de los corazones embrionarios cortados por congelación en el estudio de los espacios endomiocárdicos, de la matriz extracelular, así como de los espacios intercelulares existentes entre los miocitos. Esto es debido a la mayor limpieza del corte que se obtiene empleando el criostato (Ver e.g. LAMINA 14, LAMINA 29, LAMINA 41, LAMINA 48, LAMINA 50, LAMINA 51, LAMINA 52).

Así, frente a las ventajas que presentan los embriones del grupo II (Ver "material y métodos"), los del grupo I permiten un mejor estudio ultraestructural de la preparación.

El proceso de trabeculización se va a iniciar en el E 17 HH.

MANASEK (1970b) realiza un estudio sobre la histogénesis del miocardio en el embrión de pollo, observando como el rápido crecimiento del ventrículo primitivo se acompaña internamente por un proceso de diverticulización que va a cambiar el aspecto de la pared ventricular. Al final del estadio de asa, se van a formar amplios espacios intercelulares en la capa miocárdica. Como resultado, el miocardio compacto en un principio se divide en dos capas: una capa externa o compacta y una capa interna o esponjosa.

Para DOR y col. (1989) el ventrículo primitivo está comprendido entre las curvaturas mayor y menor del asa cardíaca. Dos zonas concéntricas ocupan su cara interna: una lisa cerca de la curvatura menor, otra trabeculada a lo largo de la curvatura mayor. La zona trabeculada ocupa el fondo del ventrículo primitivo. Es común a los dos ventrículos. El miocardio del ventrículo primitivo se divide en una capa externa y otra interna. La capa externa se encuentra revestida superficialmente por el epicardio. La interna se reviste por su cara profunda de endocardio, permaneciendo simple (sin pliegues), en la zona lisa; se pliega y se perfora en la zona trabeculada.

Basándonos en nuestras observaciones consideramos acertada tanto la división del miocardio durante el proceso de trabeculización en dos capas: una capa superficial o externa y una capa profunda o interna, como la división de la capa profunda del miocardio en zona lisa y zona trabeculada. Sin embargo, DOR y col. (1989) en su trabajo no establecen diferencias, como hemos hecho nosotros, entre *conus cordis* y ventrículo primitivo, considerando al ventrículo primitivo como el origen tanto del ventrículo izquierdo como del derecho.

Como consecuencia del crecimiento más rápido de la capa profunda respecto al de la capa superficial, se va a producir el plegamiento de la misma, iniciándose el proceso de trabeculización.

La aparición de estos primeros pliegues se produce de derecha a izquierda, desde la porción proximal del *conus cordis* hacia la porción distal del ventrículo primitivo, de manera más

o menos equidistante perpendicularmente a la curvatura mayor, teniendo por centro el fondo de la curvatura menor (LAMINA 1: Fotos 1 y 2).

Estos pliegues van a dar lugar a los "haces trabeculares principales" (BEN-SHACHAR y col, 1985) o "trabéculas sagitales primitivas" (DOR y col., 1989).

En el E 18 HH apreciamos como al plegamiento de la capa interna, se ha sumado la perforación de la misma dando lugar a la formación de numerosos orificios (LAMINA 2).

Estas perforaciones van a permitir a la sangre irrigar en todo su espesor a la pared miocárdica. Se van a comportar como "coronarias primitivas".

Este hecho podría explicar el significado funcional de la trabeculización durante los primeros estadios del desarrollo.

Del mismo modo que DOR y col. (1989) sostienen que el proceso de trabeculización se inicia a nivel del miocardio "labrando" éste al endocardio, nosotros pensamos que se produce primero el plegamiento de la capa profunda del miocardio así como la aparición de amplios espacios intercelulares entre los miocitos, y secundariamente la invaginación del endocardio (LAMINA 2: Fotos 3, 4 y 5).

En este E 18 HH se va a producir la aparición de los "haces trabeculares secundarios" (BEN-SHACHAR y col., 1985) o "trabéculas primitivas transversales" (DOR y col., 1989).

Para DOR y col. (1989) las trabéculas transversales aparecen únicamente en la parte derecha de la zona trabeculada del

ventrículo primitivo, es decir, en la parte que va a dar lugar a la zona trabeculada del ventrículo derecho

Sin embargo, nosotros hemos observado también "trabéculas transversales" en la parte izquierda de la zona trabeculada, futura zona trabeculada del ventrículo izquierdo (LAMINA 2: Fotos 1 y 2; LAMINA 4: Foto 4), persistiendo al menos hasta el E 24 HH (LAMINA 8: Foto 4; LAMINA 9: Foto 4).

Probablemente, esta discrepancia en la localización de las "trabéculas transversales" sea debida a que estos autores no han estudiado un número suficiente de embriones por estadíos.

Según DOR y col. (1989) la más importante de estas trabéculas es la "banda moderatriz". Proponen que su esbozo es uno de los primeros en aparecer. Junto con la banda septal, de la que es prolongación, aparece precozmente, al final del día 3 de incubación. Nace del borde libre de las trabéculas sagitales septales y "ampulares" derechas. Se proyecta hacia la pared lateral derecha, pasando a modo de puente por encima de las trabéculas subyacentes, insertándose sobre ellas. Así pues, se va a localizar en la parte ventral del ventrículo derecho. No sobrepasa la zona trabeculada. Termina en forma de "T" sobre la primera trabécula sagital, es decir, sobre la situada más a la derecha. Es inconstante. En ocasiones se desdobla. Es de entrada transversal, antes de que se inicie la migración septal. Las otras trabéculas septoparietales aparecerán un poco más tarde.

Nosotros hemos observado una trabécula transversal que aparece entre los días 3-3½. Nace del borde libre de las trabéculas sagitales izquierdas, proyectándose hacia la derecha,

hacia las trabéculas septales. Termina en forma de "T". Es inconstante. Sin embargo, a diferencia de la descrita por DOR y col. (1989), se va a localizar en la pared ventral del futuro ventrículo izquierdo y no en la del derecho (LAMINA 5: Fotos 3 y 4; LAMINA 6: Fotos 3 y 4).

Un poco más tarde, hemos observado un "cordón trabecular" localizado en la pared ventral del ventrículo derecho. Nace del borde libre de las trabéculas sagitales septales y parietales derechas, proyectándose hacia la pared lateral derecha (LAMINA 6: Fotos 5 y 6). Este sí podría corresponderse con la "trabécula transversal" descrita por DOR y col. (1989) como "banda moderatriz".

Pensamos que el motivo por el que DOR y col. (1989) no describen la trabécula transversal, observada por nosotros, en la pared ventral del ventrículo izquierdo (LAMINA 5: Fotos 3 y 4; LAMINA 6: Fotos 3 y 4), y que aparece antes que la descrita por ellos como "banda moderatriz", es que no han estudiado un número de casos suficientes.

En su trabajo existen dos hechos que corroboran nuestras observaciones: 1) La trabécula transversal localizada en la pared ventral del ventrículo derecho que describen como "banda moderatriz" corresponde al corazón de un embrión de 3-3½ días de incubación. 2) En dicho fragmento ventral, al tratarse de un corte oblicuo y no frontal, únicamente observamos la pared ventral del *conus cordis*, y no la del ventrículo primitivo. Así pues, no han podido apreciar la trabécula transversal observada por nosotros en la pared ventral del ventrículo izquierdo.

Por otro lado, opinamos que la "banda moderatriz" no se origina tan precozmente, por lo que no se correspondería con la

trabécula transversal descrita por ellos. Al igual que **VAN MIEROP** (1979) y **WENINK** (1981) pensamos que la "banda moderatriz" se origina en un estadio más tardío a partir del *septum interventriculare*. En nuestros "controles de MEB" podemos observar como coincidiendo con la fusión de los bordes libres de las láminas sagitales que van a dar lugar al *septum interventriculare* en el E 21 HH, se empieza a formar la "banda moderatriz (LAMINA 6: Foto 4), encontrándose perfectamente definida en el E 24 HH (LAMINA 9: Foto 4).

No deben de confundirse las "trabéculas transversales" con los "cordones trabeculares" y los "puentes intercelulares". Las "trabéculas transversales" están constituidas por miocardio revestido de endocardio. Van a experimentar una remodelación durante el proceso de trabeculización, pero van a persistir.

Los "cordones trabeculares" o "celulares" se originan durante el proceso de remodelación de las trabéculas. Están constituidos exclusivamente por células endocárdicas. Van a terminar rompiéndose y desapareciendo (e.g. LAMINA 6: fotos 5 y 6; LAMINA 11: Foto 3).

Los "puentes intercelulares" se van a producir durante el proceso de invaginación del endocardio, surgiendo entre dos células endocárdicas. Van a terminar rompiéndose y desapareciendo (e.g. LAMINA 2: Foto 4).

DOR y col. (1989) en su descripción de las "trabéculas secundarias", en lo que respecta al momento de su aparición, únicamente dicen que lo hacen más tardíamente que las "trabéculas transversales".

Nosotros hemos observado por primera vez las "trabéculas

secundarias" en el E 21 HH, localizadas fundamentalmente en la porción proximal del *conus cordis*, futura zona trabeculada del ventrículo derecho (LAMINA 6: Foto 2). Pese a que en estadios posteriores van a observarse también en el ventrículo izquierdo (LAMINA 8: Fotos 1, 2, 3 y 4), conforme progresa el proceso de trabeculización, van a circunscribirse cada vez más al ventrículo derecho, apenas observándose en el izquierdo.

Al igual que ICARDO y col. (1987) hemos observado diferencias entre las células endocárdicas de la zona lisa y de la zona trabeculada. Las de la zona lisa presentan una forma más o menos poligonal y aplanada, mientras que las de la zona trabeculada son más redondeadas y presentan un núcleo muy marcado. En los puntos donde se va a producir la invaginación del endocardio van a adoptar una forma alargada, presentando pequeñas prolongaciones; se orientan hacia el centro de la invaginación en forma de "roseta" (LAMINA 13: Fotos 1, 2 y 3). Estas diferencias morfológicas existentes entre las células endocárdicas de ambas regiones, trabeculada y lisa, sugieren un papel activo de las células endocárdicas a lo largo del proceso de trabeculización.

Los diferentes trabajos realizados tratando de esclarecer el origen del primitivo *septum interventriculare* defienden básicamente dos teorías: 1) "Teoría de la expansión ventricular" según la cual se va a originar como consecuencia del crecimiento centrífugo de las bolsas trabeculares ventriculares (TANDLER, 1912; FRAZER, 1931; CHANG, 1932; STREETER, 1942 y 1948; GOOR y col., 1970 y 1975; de la CRUZ, 1972; RYCHTER y RYCHTEROVA,

1981; WENINK, 1981; GIMENEZ RIBOTTA y col., 1984). 2) "Teoría de la coalescencia", según la cual se va a originar a partir de un proceso de coalescencia o fusión trabecular (HOCHSTETTER, 1906; MURRAY, 1919; KRAMER, 1942; PATTEN, 1951; HARH y PAUL, 1975; MORSE, 1978; BEN-SHACHAR y col., 1985; ARCILLA, 1986). En el primer caso, se trataría de un crecimiento pasivo y centrífugo. En el segundo caso, sería activo y centrípeto.

Para GIMENEZ RIBOTTA y col. (1984), defensores de la primera teoría, el proceso continuado de la diverticulización miocárdica, conjuntamente con el crecimiento centrífugo de las bolsas trabeculares ventriculares, hacen más aparente aún el primitivo *septum interventriculare*, que se extiende por la pared ventral del asa bulboventricular, hasta el punto de convergencia del borde ventral del espolón bulboventricular con el cojinete endocárdico superior y, por la pared dorsal del ventrículo primitivo, hasta el tubérculo derecho del cojinete endocárdico inferior. Conforme crecen las bolsas trabeculares, sus paredes externas apicomediales se van aproximando entre sí, adosándose y, al final, fusionándose, lo que aumenta considerablemente el tamaño del primitivo *septum interventriculare*. El crecimiento de cada bolsa trabecular es diferente, siendo desde el principio mayor el de la bolsa trabecular izquierda, lo que determina que el primitivo *septum interventriculare* sea mayor por su superficie izquierda que por la derecha.

Entre los partidarios de la segunda teoría, HARH y PAUL (1975) sostienen que las dos partes que constituyen la porción muscular del *septum interventriculare* tienen un origen común, desarrollándose a partir de un proceso de fusión trabecular. De este modo, la pared lisa se forma por la fusión de las

terminaciones finales de las trabéculas, mientras que la porción trabeculada se forma por la fusión de las porciones basales de las trabéculas. Como ya hemos comentado, BEN-SHACHAR y col. (1985), y ARCILLA (1986) corroboran el hecho de que el tabique muscular interventricular se desarrolla por la fusión de trabéculas más que por la elevación de la pared libre ventricular.

DOR y col. (1989) piensan que la teoría de la expansión ventricular así como la de la coalescencia trabecular, más que contradecirse, coinciden en dos puntos: la expansión de los ventrículos y el defecto de expansión interventricular. Sus observaciones van a corroborar la teoría de la coalescencia trabecular. Así, observan como el *septum* resulta de la unión de cuatro a cinco trabéculas sagitales grandes. El *septum* crece con el ventrículo primitivo, creciendo en altura a medida que se expanden los ventrículos.

Pensamos que existe una razón evidente para justificar la existencia de las dos teorías y es que ambas coexisten a lo largo del proceso de septación ventricular.

En los estadios 17, 18 y 19 HH el desarrollo de la capa externa miocárdica garantiza el crecimiento centrífugo de la porción distal del ventrículo primitivo y de la porción proximal del *conus cordis*. En cuanto al proceso de trabeculización va a progresar más en sentido dorsal, siendo mayor la zona lisa del fragmento ventral que la del fragmento dorsal (LAMINAS 1 a 3).

Este hecho continúa observándose en los estadios 20, 21 y 22 HH. Así, en el fragmento ventral se aprecia como la zona lisa se encuentra perfectamente separada de la zona trabeculada por una serie de "cordones celulares" o "cordones trabeculares"

(LAMINA 4: Fotos 3 y 4; LAMINA 6: Fotos 3 y 4; LAMINA 7: Fotos 2 y 4), siendo mayor la zona lisa en el fragmento ventral que en el dorsal.

Esta separación desaparece en el E 23 HH (LAMINA 8: Foto 3).

La diferencia en la progresión del proceso de trabeculización de las porciones ventral y dorsal, creemos que está relacionado con: 1) Un mayor crecimiento de la porción distal del ventrículo primitivo y de la porción proximal del *conus cordis* en sentido dorsocaudal. 2) Con el crecimiento del canal aurículoventricular. 3) Con el desplazamiento del *conus cordis*. 4) Con el inicio del proceso de coalescencia en la porción ventral.

BEN-SHACHAR y col. (1985) en su estudio de los acontecimientos morfogénéticos que tienen lugar en el ventrículo del corazón embrionario de pollo, no identifican el tabique muscular interventricular en los estadios 20 al 22 HH. Sostienen, al igual que ARCILLA (1986), que va a ser hacia el final del estadio 26 HH cuando las láminas trabeculares que han aumentado en número en la zona que limita ambas porciones del asa comiencen a fusionarse a nivel de las "placas trabeculares" para dar lugar a la formación del *septum*, permaneciendo separadas caudalmente. Este proceso de fusión se va a completar alrededor del E 30 HH.

A diferencia de estos autores, hemos identificado el inicio de la formación del *septum interventriculare* en el E 20 HH. Así, en la porción ventral un número determinado de trabéculas, 4 ó 5, se van a aproximar y fusionar iniciándose el "proceso de coalescencia" y dando lugar a la formación del cuerno ventral del *septum interventriculare* (LAMINA 4: Fotos 3 y 4; LAMINA 5: Foto

3). En el fragmento dorsal ha disminuido la distancia existente entre el borde libre de estas 4 ó 5 láminas trabeculares con respecto al resto de las láminas trabeculares, permaneciendo sin fusionar (LAMINA 5: Fotos 1 y 2).

Creemos que el motivo por el que BEN-SHACHAR y col. (1985) y ARCILLA (1986) no han observado la fusión de las láminas trabeculares que van a formar el *septum interventriculare* hasta finales del E 26 HH, es debido a que se van a empezar a fusionar ventralmente por su borde libre, permaneciendo separadas dorsocaudalmente. Así pues, dependiendo del nivel del corte, no se va a observar la fusión de las láminas trabeculares, dado que dorsal y caudalmente permanecen separadas.

En los estadios 21, 22 y 23 HH (LAMINA 6: Fotos 3, 4 y 5; LAMINA 7; LAMINA 8: Fotos 1 y 3) las láminas trabeculares que comenzaron a coalescer en el E 20 HH para dar lugar a la formación del *septum interventriculare*, han continuado el proceso de fusión a nivel de su borde libre, permaneciendo separadas a nivel de su implantación en la pared ventricular. Todavía no se aprecia el cuerno dorsal del *septum interventriculare*, aunque sí se ha producido una progresión en sentido ventrodorsal del proceso de coalescencia a partir del punto de anclaje en la porción ventral. No se observan diferencias en los espacios existentes a nivel de la implantación en la pared ventricular entre las láminas trabeculares que se están fusionando y el resto de láminas trabeculares.

Hasta el E 23 HH, la aproximación y posterior fusión de las láminas trabeculares que van a constituir el *septum* se produce como consecuencia del proceso continuado de trabeculización asociado al crecimiento centrífugo de las bolsas trabeculares,

y no por un defecto de expansión de la capa externa del miocardio interventricular.

El que se inicie la fusión en la porción ventral es debido a la menor expansión que experimenta con respecto a la porción dorsal.

Va a ser a partir del E 24 HH, una vez constituido el cuerno dorsal del *septum interventriculare* (LAMINA 9: Fotos 1 y 2), cuando se aprecia un defecto de expansión de la capa externa del miocardio interventricular, disminuyendo los espacios existentes entre las láminas trabeculares que están formando el *septum* y comenzando su proceso de coalescencia a nivel caudal.

El proceso de coalescencia va a continuar en los estadios siguientes, disminuyendo los espacios intertrabeculares existentes en el espesor del *septum interventriculare*.

En el E 28 HH (LAMINA 17) prácticamente ha concluido el proceso de coalescencia, faltando únicamente por constituirse la *pars membranacea* del *septum*.

Hasta el E 35 HH el *septum interventriculare* va a aumentar de grosor por un "proceso de compactación". Este proceso es mayor por su cara izquierda que por su cara derecha. Así, en este estadio, mientras la cara izquierda es lisa en su práctica totalidad, la cara derecha es trabeculada en su mitad inferior (LAMINA 27 y 28).

En cuanto a los mecanismos del proceso de trabeculización, nuestros resultados nos permiten corroborar los trabajos de ICARDO y col.(1987). Este grupo realizó un estudio morfológico sobre la trabeculización ventricular en el embrión de pollo. Pese a su aparente simplicidad, la trabeculización está lejos

de ser un simple proceso. Parece ser la expresión de tres sucesos estrechamente relacionados: la formación de invaginaciones endocárdicas que terminan invadiendo el miocardio; el desarrollo de amplios espacios intercelulares entre los miocitos; la disminución en el espesor de la matriz extracelular. Así, la trabeculización parece ser el resultado de una secuencia compleja de sucesos coordinados en los que las tres capas del corazón podrían estar implicadas.

El patrón trabecular difiere en ambos ventrículos.

Hasta el E 20 HH, momento en el que se inicia el proceso de coalescencia que va a dar lugar a la formación del *septum interventriculare*, no se observan diferencias entre las trabéculas sagitales de las porciones trabeculadas del *conus cordis* y del ventrículo primitivo.

A partir de este estadio, en el que ya hablaremos de ventrículo derecho e izquierdo, comienza a evidenciarse el diferente crecimiento centrífugo que experimentan ambos ventrículos. El ventrículo derecho va a expandirse siguiendo un eje transversal y oblicuo con respecto al *septum interventriculare*, mientras que el ventrículo izquierdo lo hace según un eje longitudinal anteroposterior.

Como resultado del diferente crecimiento centrífugo experimentado por ambos ventrículos, va a variar la disposición arquitectural de las trabéculas. Mientras que en el ventrículo izquierdo conservan la orientación dorsoventral inicial, en el ventrículo derecho van a orientarse de manera semicircular, aproximándose por su borde libre y separándose por su borde parietal.

Al mismo tiempo van a presentar diferencias morfológicas.

En el ventrículo izquierdo presentan la forma de láminas altas, engrosadas por su borde libre. Las caras de las láminas son lisas cerca de su borde libre y trabeculadas cerca de su borde parietal. Presenta pocas trabéculas secundarias y ninguna transversal a partir del E 24 HH.

En el ventrículo derecho son más pequeñas y delgadas. Se aprecian numerosas trabéculas secundarias y transversales.

En el E 35 HH de corazón maduro, el patrón trabecular del ventrículo izquierdo se presenta más regular que el del ventrículo derecho. Presenta unas trabéculas gruesas, redondeadas, entre las que se intercalan algunas trabéculas más delgadas, existiendo espacios intertrabeculares entre las mismas. Se van a disponer más o menos longitudinalmente siguiendo el eje mayor del ventrículo izquierdo. Van a tener por centro la cámara de salida del mismo o infundíbulo aórtico (LAMINA 28: Foto 3).

En el ventrículo derecho las trabéculas son más delgadas, observándose una fina red de cordones trabeculares en su superficie. Las trabéculas se van a disponer siguiendo un semicírculo, coincidiendo sus extremos con el anclaje ventral y dorsal del *septum interventriculare* (LAMINA 28: Foto 2).

Clásicamente, se consideran las cámaras de entrada y de salida ventriculares lisas, es decir, no trabeculadas. Efectivamente, esto es así en el corazón adulto.

Sin embargo, hemos observado como el infundíbulo aórtico se ve involucrado en el proceso de remodelación trabecular, fundamentalmente su pared posterior (LAMINA 21: Fotos 3 y 4). Este proceso de remodelación de la pared posterior del

infundíbulo aórtico prácticamente ha concluido en el E 33 HH (LAMINA 24: Fotos 6 y 7).

Probablemente este proceso de remodelación que experimenta la pared posterior del infundíbulo aórtico esté relacionado con la fusión de los cojinetes endocárdicos para formar el *septum intermedium*.

Aunque no constituye el tema de nuestra investigación, hemos realizado dos observaciones de interés en lo que a la aparición de los cojinetes endocárdicos y del *foramen secundum* se refiere.

SISSMAN (1970) señala que los cojinetes endocárdicos ventral y dorsal aparecen en el E 19 HH.

GARCIA PELAEZ (1982) sitúa la aparición de los cojinetes en el E 18 HH.

Nosotros los hemos observado claramente a MEB en el E 20 HH, lo que no quiere decir que la diferenciación de dichas estructuras se haya iniciado antes.

Por otro lado, MORSE y col. (1984) en su estudio sobre la formación del *septum interauriculare* en el embrión de pollo, describen como antes de que se produzca la completa fusión entre el *septum primum* y los cojinetes del canal auriculoventricular, aparecen numerosas perforaciones en el *septum primum* que permiten el paso de sangre desde la aurícula derecha a la aurícula izquierda dando lugar al *foramen secundum*. Estos orificios se sitúan en la porción dorsal del tabique, no observándose nunca en su mitad ventral.

Sin embargo, en la foto 2 de la lámina 6 correspondiente al fragmento ventral de un corazón embrionario del E 32 HH, se aprecia como el *foramen secundum* se va a localizar también en la

mitad ventral del *septum interauriculare*.

II . MORTALIDAD Y MALFORMACIONES .

El desarrollo cardíaco se puede considerar como un proceso dinámico de crecimiento y morfogénesis acompañado de cambios en la función hemodinámica.

Los cambios morfológicos que se producen durante el desarrollo del corazón han sido ampliamente estudiados.

Sin embargo, se dispone de menos información sobre los cambios hemodinámicos producidos.

Durante mucho tiempo los embriólogos han especulado sobre el posible papel de la función hemodinámica en el desarrollo estructural del sistema cardiovascular.

La dificultad en establecer la interrelación entre la forma y la función del corazón durante el desarrollo se ha basado esencialmente en la ausencia de técnicas para cuantificar los factores hemodinámicos de la circulación precoz.

Se han realizado varios trabajos en un intento de profundizar en el conocimiento de los cambios hemodinámicos producidos durante la morfogénesis cardíaca, estableciéndose los modelos de flujo sanguíneo existentes en el corazón embrionario, lo que ha proporcionado una base para analizar el papel que juegan los factores hemodinámicos durante la cardiogénesis.

El análisis de estudios experimentales que modifican los patrones de flujo proporciona únicamente indicios deductivos que conducen a algunos investigadores a formular la hipótesis de que la alteración funcional constituye un mecanismo patogénico de anomalías morfológicas (Ver el subapartado 5 correspondiente a "Función hemodinámicos" del apartado II "MECANISMOS RESPONSABLES DEL DESARROLLO CARDIACO: FACTORES HEMODINAMICOS" de la

INTRODUCCION).

Así pues, en los trabajos realizados modificando el volumen total circulante, a excepción de los efectuados en nuestro Departamento (BENITEZ RUBIO, 1986; PEREZ DE MIGUELSANZ, 1987; PUERTA y col., 1987; PEREZ DE MIGUELSANZ y col., 1989; TABORDA LOPEZ, 1990), se ha estudiado exclusivamente las modificaciones fisiológicas producidas, sin tener en cuenta el posible papel de los factores hemodinámicos en la patogenia de las malformaciones cardíacas congénitas.

BENITEZ RUBIO (1986) y TABORDA LOPEZ (1990) disminuyendo el flujo de entrada al corazón mediante la supresión del aporte venoso que llega al mismo a través de las venas vitelinas, mediante ligadura o sección de una de ellas, y PEREZ DE MIGUELSANZ (1987) aumentando el flujo de entrada mediante la perfusión a través de las venas vitelinas de una cantidad determinada de sangre de embrión de pollo, llevan a cabo un estudio morfológico de los resultados. Obtienen malformaciones cardíacas que afectan a las diferentes porciones del corazón, así como a los derivados de los arcos aórticos. Las anomalías obtenidas fueron similares tanto aumentando como disminuyendo el flujo de entrada al corazón, variando el porcentaje de aparición de las mismas en ambos casos. Las malformaciones cardíacas más frecuentes fueron las obtenidas a nivel de la región ventricular. En ambos casos las alteraciones ventriculares consistían en una fuerte modificación del patrón de trabeculización normal, con tres patrones distintos: 1) Corazones de paredes muy gruesas y con escasas trabéculas a modo de mamelones; 2) Corazones con paredes muy delgadas, con trabéculas de disposición paralela y de pequeño tamaño, con

ausencia de ellas en determinadas zonas del ventrículo derecho;

3) Corazones de morfología mixta, con paredes de grosor irregular en las que observamos grandes trabéculas en la zona de pared engrosada, o pequeñas trabéculas paralelas en la zona de pared adelgazada.

Estos autores concluyen que las alteraciones de los factores hemodinámicos durante los momentos claves del período morfogenético cardíaco constituyen un mecanismo patogénico inespecífico en la producción de malformaciones cardíacas.

En el presente trabajo nos planteamos profundizar en las alteraciones provocadas, al aumentar el flujo de entrada al corazón, sobre el desarrollo del miocardio y su importancia en las anomalías congénitas cardíacas.

Utilizando la técnica ya normalizada en nuestro laboratorio (PEREZ DE MIGUELSANZ 1987 y 1989), inyectamos a través de una rama de la vena vitelina derecha tres volúmenes estándar diferentes de sangre de embrión de pollo (7, 15 y 25% del volumen total circulante) a embriones de los estadíos 22, 25 y 29 HH, siendo reincubados hasta el E 35 HH.

El hecho de realizar el aumento de flujo a través de la vena vitelina derecha y no por la izquierda es debido a los resultados obtenidos por PEREZ DE MIGUELSANZ (1987), en los que al actuar sobre la vena vitelina derecha obtiene una mayor incidencia de malformaciones cardíacas y una mayor tasa de supervivencia que al hacerlo sobre la vena vitelina izquierda.

Dicha autora propone que esto puede ser debido a una posible independencia por parte de ambas corrientes dentro del tronco

común que recorren hasta llegar al seno venoso donde desembocan junto al conducto de Cuvier derecho. Se basa en los siguientes trabajos.

MEIER (1987) describe los patrones de flujo de una unión asimétrica afirmando que pueden producirse "burbujas de separación", formadas por un gradiente de presión adversa del flujo en el área de unión. Van a ser zonas de remolinos estacionarios que rotan lentamente y se sitúan en las paredes más laterales. Propone también la existencia de un flujo divisor entre ambas corrientes en el área de unión, haciendo que las corrientes procedentes de ambos vasos discurren de forma independiente y sin posibles mezclas durante su recorrido común.

Las venas vitelinas u onfalomesentéricas procedentes del saco vitelino se introducen en el embrión a nivel de la porta intestinal anterior y se fusionan en el día tres de incubación formando el *ductus venosus*, alrededor del cual, más tarde, se desarrollará el hígado. El vaso resultante unido al conducto de Cuvier derecho forman una gran corriente sanguínea derecha, mientras que la izquierda sólo está compuesta por el conducto de Cuvier (**HAMILTON, 1952; ROMANOFF, 1960**).

YOSHIDA y col. (1983) , mediante estudios microangiográficos con azul de metileno, describen dos corrientes intracardíacas en embriones comprendidos entre los estadios 14 y 22 HH.

ARCILLA (1986) estudiando los modelos de flujo durante el desarrollo del corazón, antes de la septación y formación valvular, observa dos modelos de corrientes análogos a los descritos por **YOSHIDA y col., 1983**, a los que denomina tipo A y tipo B. Estos dos modelos de corrientes difieren de los descritos por **BREMER (1929, 1931/1932)** y **JAFFEE (1965)** quienes

describieron una corriente derecha y otra izquierda que adoptan un curso espiral en la región troncoconal. **ARCILLA** observa que a nivel troncoconal las corrientes no siguen una trayectoria espiral, al menos durante los primeros estadios del desarrollo cardíaco, no estando de acuerdo con el posible papel de estas corrientes en la septación troncoconal. Por lo tanto, **YOSHIDA y col.** y **ARCILLA** no comparten la teoría flujo moldeante defendida por **BREMER** y **JAFFEE** entre otros. Sostienen que la septación, al igual que otros acontecimientos básicos del desarrollo, es un proceso intrínseco y programado en los primeros estadios del desarrollo.

Por otro lado, los territorios irrigados por cada una de las venas vitelinas no están claramente delimitados, dadas las numerosas interconexiones existentes entre ellos. Es difícil establecer si una irriga un territorio mayor que la otra, siendo lo más probable que exista un equilibrio entre las dos corrientes a nivel del *ductus venosus* (**HAMILTON, 1952; ROMANOFF, 1960**).

Basándonos en el hecho de que las dos corrientes procedentes de las venas vitelinas derecha e izquierda desembocan en un vaso común, asociadas al conducto de Cuvier derecho, en el seno venoso, creemos que la posible independencia por parte de ambas corrientes dentro del tronco común que recorren hasta llegar al seno venoso, podría explicar las diferencias obtenidas por **PEREZ DE MIGUELSANZ (1987)** al actuar sobre la vena vitelina derecha o sobre la izquierda.

Sin embargo, no se puede descartar el que ambas corrientes posean un calibre diferente, contribuyendo de un modo desigual en la morfogénesis cardíaca.

Al igual que PEREZ DE MIGUELSANZ (1986), al inyectar sangre de embrión de pollo tratamos de evitar la hipoxia, factor teratogénico adicional (GRABOWSKI y PAAR, 1958; JAFFEE, 1971, 1976 y 1979) en todas las experiencias realizadas hasta la fecha por otros grupos sobre la influencia del aumento de flujo en la morfogénesis cardíaca, en las que inyectan dextrano y/o solución Ringer (CLARK, 1984; WAGMAN y CLARK, 1985) .

La sangre inyectada fue obtenida a partir de embriones de 12 a 16 días de incubación. Los embriones receptores fueron operados entre los $3\frac{1}{2}$ - 4 y $6\frac{1}{2}$ días de incubación (Estadíos 22 a 29 HH).

La composición de la sangre inyectada, procedente de los embriones donantes, va a variar con respecto a la de los embriones receptores.

Nosotros, al inyectar sangre de embriones de 12 a 16 días de incubación a embriones de $3\frac{1}{2}$ a $6\frac{1}{2}$ días, conseguimos que los niveles de hemoglobina y el valor hematocrito de la sangre inyectada sean mucho mayores que la del embrión receptor (RYCHTER y col., 1955), con lo que evitamos el factor hipoxia.

El aumento en la viscosidad del flujo sanguíneo del embrión receptor, provocado por el mayor valor hematocrito de la sangre perfundida (MEIER, 1987), va a dar lugar: 1) Incremento del gasto cardíaco. 2) Disminución en la tendencia a la aparición de flujo turbulento (GUYTON, 1984).

El aumento del gasto cardíaco como mecanismo de respuesta ante una sobrecarga hemodinámica aguda entra dentro de nuestros planteamientos de trabajo. Podría explicar la mortalidad intraoperatoria obtenida.

Por otro lado, la disminución en la tendencia a la aparición

de flujo turbulento favorece que al realizar la perfusión no se produzca un flujo turbulento anómalo.

LE DOUARIN y col. (1984) llevan a cabo un estudio sobre el desarrollo del sistema inmunitario en el embrión de pollo. El primer indicio de células precursoras de linfocitos invadiendo el timo se observa entre los 5 y 6 días de incubación (Estadíos 27 a 29 HH). Existe un segundo y un tercer período de colonización. El segundo se va a producir entre los 11 y 12 días (Estadíos 37 a 38 HH), y el tercero entre los 17 y 19 días (Estadíos 43 a 45 HH). Por otro lado, la diferenciación en el mesénquima de la bolsa de Fabricio de granulocitos y eritrocitos tiene lugar entre los días 8 y 18 (Estadíos 34 a 44 HH). En ambos casos, no se pueden considerar los linfocitos maduros hasta el día 20 de incubación (Estadíos 45 y 46 HH).

Pese a que el sistema inmune en el pollo empieza a funcionar muy precozmente (E 45 HH), en nuestras experiencias los embriones han sido fijados entre 8½ y 9 días (E 35 HH), por lo que el rechazo por incompatibilidad inmunológica queda descartado.

1.- Mortalidad.

Los mortalidad obtenida en los diferentes grupos estudiados fue:

- Testigos de tirode: 22'2% de la totalidad de embriones considerados en este grupo.

- Testigos de heparina: 35'8% de la totalidad de embriones considerados en este grupo.

- Embriones operados: 43'6% de la totalidad de embriones considerados en este grupo.

Dicha incidencia queda recogida en la TABLA 48.

En nuestros planteamientos iniciales no esperábamos obtener una mortalidad significativa en los grupos correspondientes a los "Testigos de tirode" y "Testigos de heparina".

Del mismo modo que calculamos los tres volúmenes estándar inyectados a los "Embriones operados", correspondientes al 7, 15 y 25% del volumen total de sangre circulante en los estadíos 22, 25 y 29 HH (Ver el apartado 6 de MATERIAL Y METODOS), hemos calculado a qué porcentaje del volumen total circulante corresponden las cantidades de tirode y de tirode + heparina inyectadas a los "Testigos de tirode" y "Testigos de heparina" respectivamente, en los estadíos 22, 25 y 29 HH, con el fin de poder extrapolar datos:

- Testigos de tirode y de heparina intervenidos en el E 22 HH: las cantidades inyectadas correspondieron aproximadamente a un ↑ 3'5% del volumen total circulante.

TABLA 48 .

INCIDENCIA DE MORTALIDAD .

	EMBRIONES CONSIDERADOS	EMBRIONES MUERTOS	% MORTANDAD
1. TESTIGOS DE TIRODE:	72	16	22'2%
Intervenidos E 22 HH: ↑ 3'5%	30	8	26'6%
Intervenidos E 25 HH: ↑ 1'6%	22	3	13'6%
Intervenidos E 29 HH: ↑ 0'9%	20	5	25%
2. TESTIGOS DE HEPARINA:	92	33	35'8%
Intervenidos E 22 HH: ↑ 3'5%	40	17	42'5%
Intervenidos E 25 HH: ↑ 1'6%	31	11	35'4%
Intervenidos E 29 HH: ↑ 0'9%	21	5	23'8%
3. EMBRIONES OPERADOS:	261	114	43'6%
En el E 22 HH.	73	28	38'3%
↑ 7%	26	7	26'9%
↑ 15%	34	19	55'8%
↑ 25%	13	2	15'3%
En el E 25 HH.	117	62	52'9%
↑ 7%	40	18	45%
↑ 15%	47	28	59'5%
↑ 25%	30	16	53'3%
En el E 29 HH.	71	24	33'8%
↑ 7%	22	5	22'7%
↑ 15%	24	7	29'1%
↑ 25%	25	12	48%

- Testigos de tirode y de heparina intervenidos en el E 25 HH: las cantidades inyectadas correspondieron aproximadamente a un \uparrow 1'6% del volumen total circulante.

- Testigos de tirode y de heparina intervenidos en el E 29 HH: las cantidades inyectadas correspondieron aproximadamente a un \uparrow 0'9% del volumen total circulante.

Así, el mayor volumen inyectado en ambos grupos testigo fue del 3'5%.

El único factor que tienen en común los tres grupos, y que no podría explicar la elevada mortalidad de los dos grupos testigo, es el aumento de volumen producido.

Pese a que la mayor mortalidad correspondió al grupo de los "Embriones operados", si comparamos el número de embriones considerados en este grupo, 261 embriones considerados, con los de los "Testigos de tirode", 72 embriones considerados, y de "heparina", 92 embriones considerados, comprobamos que este dato no es del todo significativo.

El motivo por el que la mortalidad ha sido tan elevada en los dos grupos testigo posiblemente sea debido a la situación de hipoxia creada como consecuencia de la hemodilución provocada al inyectar tirode y tirode + heparina. Este factor teratogénico, como ya hemos comentado, se evita al perfundir sangre de embrión de pollo en el caso de los "Embriones operados"

Al analizar la **TABLA 48** llaman la atención una serie de datos.

Dentro de los "Embriones operados" la mayor mortalidad correspondió a los embriones intervenidos en el E 25 HH. Esto

puede deberse a que el E 25 HH constituya un período crítico en la morfogénesis del corazón. Así, entre los estadios 23 al 30 HH se produce el mayor número de cambios morfogénéticos a nivel cardíaco. Estos se pueden ver alterados, produciéndose numerosas y variadas anomalías que conducen a la muerte del embrión.

Los embriones operados en el E 22 HH toleran peor los aumentos medios (15%).

Al igual que PEREZ DE MIGUELSANZ (1987) pensamos que los corazones de los embriones más jóvenes, en nuestro caso los del E 22 HH, presentan una mayor capacidad para adaptarse a nuevas condiciones, pudiendo sufrir cambios iniciales que podrán asumir a lo largo del desarrollo; aunque estas modificaciones iniciales provoquen anomalías, en todo caso, van a ser compatibles con la vida.

Por el contrario, los intervenidos en el E 29 HH toleran peor los aumentos mayores (25%).

El que se alteren las diferentes porciones de los corazones correspondientes a embriones mayores, las cuales se encuentran en un período morfogénético más avanzado, es mucho más difícil. Los corazones presentan un grado de maduración mayor pudiendo resistir los cambios hemodinámicos provocados sin alterarse, hasta que llega un momento en que el aumento provoca el fallo del corazón.

De los 503 embriones destinados a estos tres grupos estudiados, 78 no fueron considerados por presentar hemorragia durante el transcurso de la intervención o por morir en los 30 primeros minutos tras la intervención. En este último caso, consideramos que la mortalidad es debida a la modificación de los

patrones hemodinámicos producida en un breve período de tiempo y que el embrión no es capaz de superar.

Durante la intervención el embrión intenta compensar el aumento de volumen provocado mediante un incremento de la frecuencia cardíaca. En aquellos casos en los que la perfusión se realizó demasiado deprisa, no dando tiempo al embrión a normalizar su situación hemodinámica, tras la taquicardia inicial se producía una arritmia, y en ocasiones, en última instancia, el paro cardíaco, e incluso la ruptura de una pared vascular o de la aurícula.

Así, RAJALA y col. (1984a y 1984b) observan como los embriones que presentan disritmias al ser tratados durante el E 24 HH con epinefrina, presentan una mortalidad significativamente más elevada.

Por otro lado, CLARK (1984) señala que pequeños cambios en el volumen circulante se traducen en grandes alteraciones en la reología embrionaria.

Resulta difícil establecer si la mortalidad, en algunas ocasiones, se haya podido producir como consecuencia de una malformación cardíaca secundaria a la técnica empleada, dada la imposibilidad de estudiar los corazones de los embriones muertos por su estado de maceración.

2.- Malformaciones morfológicas externas.

Dado que el estudio de las malformaciones morfológicas externas, obtenidas en un porcentaje importante, se aleja de nuestros objetivos así como de la recopilación bibliográfica realizada, no vamos a llevar a cabo una discusión en profundidad de estos hallazgos. Nos limitaremos a presentarlos de una forma sucinta, en un intento de facilitar su análisis por parte de los lectores interesados en el tema.

El 17'6% de la totalidad de los embriones considerados presentaron algún tipo de malformación morfológica externa. El número de casos por grupo estudiado fue:

- Testigos de tirode: 15 embriones malformados, lo que supone un 20'8% del total de embriones considerados en este grupo.
- Testigos de heparina: 10 embriones malformados, lo que supone un 10'8% del total de embriones considerados en este grupo.
- Embriones operados: 50 embriones malformados, lo que supone un 19'1% del total de embriones considerados en este grupo.

Dicha incidencia queda recogida en la **TABLA 49.**

En nuestros planteamientos iniciales no esperábamos obtener una incidencia de malformaciones morfológicas externas en los "Testigos de tirode" y "Testigos de heparina" significativa con

TABLA 49 .

**INCIDENCIA DE MALFORMACIONES
MORFOLOGICAS EXTERNAS .**

	EMBRIONES CONSIDERADOS	EMBRIONES MALFORMADOS	% MALFORMACIONES
1. TESTIGOS DE TIRODE:	72	15	20'8%
Intervenidos			
E 22 HH: ↑ 3'5%	30	8	26'6%
Intervenidos			
E 25 HH: ↑ 1'6%	22	6	27'2%
Intervenidos			
E 29 HH: ↑ 0'9%	20	1	5%
2. TESTIGOS DE HEPARINA:	92	10	10'8%
Intervenidos			
E 22 HH: ↑ 3'5%	40	3	7'5%
Intervenidos			
E 25 HH: ↑ 1'6%	31	4	12'9%
Intervenidos			
E 29 HH: ↑ 0'9%	21	3	14'4%
3. EMBRIONES OPERADOS:	261	50	19'1%
En el E 22 HH.	73	13	17'8%
↑ 7%	26	7	26'9%
↑ 15%	34	5	14'7%
↑ 25%	13	1	7'6%
En el E 25 HH.	117	14	11'9%
↑ 7%	40	6	15%
↑ 15%	47	7	14'8%
↑ 25%	30	1	3'3%
En el E 29 HH.	71	23	32'3%
↑ 7%	22	4	18'1%
↑ 15%	24	3	12'5%
↑ 25%	25	16	64%

respecto a la presentada por los "Testigos en blanco" o por los "Controles de MEB".

Sin embargo, al igual que ocurrió con la mortalidad, la incidencia de malformaciones morfológicas externas presentada por los "Testigos de tirode" y "Testigos de heparina" ha sido superponible a la presentada por los "Embriones operados"

El único factor que tienen en común los tres grupos, y que no podría explicar la elevada incidencia de malformaciones morfológicas externas presentada por los dos grupos testigo, es el aumento de volumen producido.

El motivo por el que la incidencia de malformaciones morfológicas externas haya sido tan elevada en los dos grupos testigo posiblemente sea debido a la situación de hipoxia creada como consecuencia de la hemodilución provocada al inyectar tirode y tirode + heparina. Este factor teratogénico, como ya hemos comentado, se evita al perfundir sangre de embrión de pollo en el caso de los "Embriones operados"

Al comparar las TABLAS 48 y 49, llama la atención el hecho de que los embriones operados en el E 29 HH presentan una menor mortalidad y una mayor incidencia de malformaciones morfológicas externas que los operados en los estadios 22 y 25 HH. Esto refuerza nuestra idea de que en el E 29 HH el grado de maduración presentado por el corazón le permite resistir los cambios hemodinámicos sin alterarse, no ocurriendo lo mismo con otros órganos embrionarios.

No hemos observado malformaciones apreciables en los "Testigos en blanco" ni en los "Controles de MEB", a excepción de alteraciones en el desarrollo de las extremidades, por lo que

pensamos que las malformaciones obtenidas no son espontáneas, sino motivadas por la técnica empleada.

Resulta difícil establecer si las malformaciones morfológicas externas son secundarias a las malformaciones cardíacas asociadas, dado que de los 75 embriones considerados que presentaron malformaciones morfológicas externas:

- 19 murieron antes de alcanzar el E 35 HH, siendo imposible el determinar si presentaban o no algún tipo de malformación cardíaca dado su estado de maceración.
- 23 → MO no habiendo sido estudiados todavía.
- 33 → MEB.

Así pues, existen 42 embriones de los 75 que presentaron malformaciones morfológicas externas de los cuales no sabemos si tenían o no malformación cardíaca asociada.

De los 33 embriones con malformaciones morfológicas externas procesados para su estudio a MEB, únicamente 13 tenían alguna malformación cardíaca asociada.

A diferencia de PEREZ DE MIGUELSANZ (1987), no creemos que las malformaciones morfológicas externas sean secundarias a las malformaciones cardíacas asociadas, sino que pensamos son debidas a la influencia directa de la técnica empleada en otras estructuras embrionarias.

Las malformaciones y el número de casos obtenidos fue el siguiente:

- DEFECTOS DE CIERRE DE LA PARED VENTRAL, 42 casos, lo que supone un 56% de los embriones malformados:
 - Ectopia cordis: 10 casos (13'3%).

- Celosomía abdominal: 13 casos (17'3%).
- Celosomía tóracoabdominal: 19 casos (25'3%).

- ALTERACIONES DEL SEGMENTO CAUDAL, 38 casos, lo que supone un 50'6% de los embriones malformados:

- Síndrome de cola corta incipiente: 2 casos (2'6%).
- Síndrome de cola corta marcado: 10 casos (13'3%).
- Ausencia total de cola: 26 casos (34'6%).

- ALTERACIONES DEL PICO, 25 casos, lo que supone el 33'3% de los embriones malformados:

- Alteración en la congruencia de los picos denominada desviación de pico o picos en X ("Cross-beak"): 12 casos (16%).
- Pico hipoplásico: 8 casos (10'6%).
- Mandíbula hipoplásica: 3 casos (4%).
- Maxilar hipoplásico: 2 casos (2'6%).

- ALTERACIONES OCULARES, 18 casos, lo que supone un 24% de los embriones malformados:

- Anoftalmía bilateral: 1 caso (1'3%).
- Anoftalmía izquierda: 3 casos (4%).
- Microftalmía bilateral: 1 caso (1'3%).
- Microftalmía izquierda: 12 casos (16%).
- Retraso en el desarrollo de ambos ojos: 1 caso (1'3%).

- ALTERACIONES DE LAS EXTREMIDADES, 12 casos, lo que supone un 16% de los embriones malformados:

- Retraso en desarrollo de las extremidades superiores e inferiores: 8 casos (10'6%).
- Extremidades inferiores malformadas: 3 casos (4%).
- Extremidades inferiores fusionadas: 1 caso (1'3%).

- ALTERACIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL, 3 casos, lo que

supone un 4% de los embriones malformados:

- **Exencefalia:** 2 casos (2'6%).
- **Hidrocefalia:** 1 caso (1'3%).

A continuación, vamos a hacer un breve comentario de cada uno de los grupos de alteraciones morfológicas externas obtenidos

a) Defectos de cierre de la pared ventral.

STEPHAN (1955) al suprimir la corriente de la vena vitelina derecha en embriones de 27 a 32 horas obtiene celosomía abdominal asociada en algunos casos a ectopia cordis.

ROHR Y VAUPEL (1975) al ligar la vena vitelina derecha en embriones de los estadios 18 al 24 HH obtiene casos de ectopia cordis.

HURLE Y COLVEE (1983) introducen un alambre de tungsteno bajo la porción troncoconal en embriones de 3½ días obteniendo malformaciones cardíacas, de las válvulas sigmoideas, así como defectos de cierre de la pared ventral.

BENITEZ RUBIO (1986) al ligar la vena vitelina derecha o la izquierda obtiene algunos casos de celosomía abdominal asociada en ocasiones a ectopia cordis.

PEREZ DE MIGUELSANZ (1987) al aumentar el volumen sanguíneo circulante a través de las venas vitelinas derecha e izquierda obtiene algún caso de celosomía abdominal.

Pensamos que dicha alteración puede ser debida al efecto mecánico provocado por la técnica utilizada en nuestras experiencias que va a impedir el correcto cierre de la pared ventral.

b) Alteraciones del segmento caudal.

PEREZ DE MIGUELSANZ (1987) obtiene casos de alteraciones del segmento caudal al aumentar el volumen sanguíneo a través de las venas vitelinas derecha e izquierda.

Creemos que como consecuencia directa de la técnica empleada se podrían producir modificaciones en el patrón normal de las ramas de la aorta abdominal responsables de la irrigación de esta zona.

c) Alteraciones del pico.

En condiciones normales, a partir del E 20 HH, el proceso maxilar se observa igual o mayor que el proceso mandibular. En el E 21 HH el proceso maxilar es definitivamente mayor que el proceso mandibular (HAMILTON, 1952).

Todas las arterias que van a irrigar el pico derivan de la aorta dorsal y de las arterias segmentarias. A los 4½ días de incubación la carótida primitiva derivada de la aorta ventral va a dar lugar a los ramos maxilar y mandibular (ROMANOFF, 1960).

BARRAQUER COMPTE (1987) en su estudio sobre el desarrollo de la inervación ocular realizando autoinjertos heterotópicos de las vesículas encefálicas, obtiene duplicaciones del maxilar y de la mandíbula, defectos en la fusión de los procesos palatinos y desviaciones de pico.

PEREZ DE MIGUELSANZ (1987), al aumentar el volumen sanguíneo a través de las venas vitelinas derecha e izquierda, obtiene embriones con hipoplasia del maxilar asociada a una alteración de los arcos aórticos.

Nosotros no hemos estudiado los arcos aórticos. Sin embargo, pensamos que dicha malformación puede ser debida a una alteración en la morfogénesis normal de los vasos responsables de la irrigación del pico, motivada por la técnica empleada, lo que daría lugar a un defecto en el aporte sanguíneo y secundariamente a las alteraciones del pico.

Al igual que WOUTERLOOD (1977), hemos constatado la asociación de la desviación de pico con la asimetría facial provocada por las microftalmías unilaterales. Así, de los 12 casos de desviación de pico, 8 presentaban microftalmía

izquierda y 3 anoftalmía izquierda asociadas.

d) Alteraciones oculares.

ORTS LLORCA y col. (1959) ponen de relieve la gran frecuencia con que la ligadura de los vasos vitelinos izquierdos da lugar a microftalmías izquierdas y como la ligadura de los vasos vitelinos derechos, sólo en una pequeña proporción va a provocar también microftalmías izquierdas. Así, la ligadura de los vasos vitelinos izquierdos o derechos se asocia a alteraciones de la mitad izquierda del encéfalo. Proponen que esto es debido a las deficiencias en el aporte de sustancias nutritivas, necesarias en la síntesis de proteínas imprescindibles para el normal desarrollo de los órganos. Apuntan también la mayor labilidad del lado izquierdo.

RYCHTER y LEMEZ (1963) piensan que las microftalmías izquierdas obtenidas por ORTS LLORCA y col. (1959) son debidas a alteraciones del flujo sanguíneo que atraviesa los arcos aórticos segundo y tercero provocada por la ligadura de la vena vitelina izquierda.

MURILLO FERROL (1965) mediante la ligadura de los vasos vitelino derecho e izquierdo obtiene macroftalmías y anoftalmías, comprobando que la ligadura de los vasos vitelinos derechos da lugar con menos frecuencia a alteraciones oculares. Piensa que las macroftalmías obtenidas son debidas a un aumento de presión venosa intraembrionaria o a una activación trófica.

GRABOWSKI y PAAR (1958) en su estudio sobre el efecto teratogénico de la hipoxia en embriones de pollo comprendidos entre 18 horas y 9 días de incubación, obtienen alteraciones oculares y del sistema nervioso central.

Así, **BENITEZ RUBIO (1986)** propone que la hipoxia provocada a consecuencia de la ligadura de los vasos vitelinos puede ser la responsable de las alteraciones oculares.

En nuestro caso, al inyectar sangre obtenida a partir de un embrión de pollo, pensamos que hemos obviado este factor teratogénico.

DE LA CRUZ y col. (1966) comprobando los efectos de un incremento de temperatura durante el desarrollo embrionario obtienen alteraciones oculares y del sistema nervioso central.

PEREZ DE MIGUELSANZ (1987) al incrementar el flujo sanguíneo a través de las venas vitelinas obtiene alteraciones oculares.

Así pues, la actuación sobre los vasos vitelinos va a dar lugar con gran frecuencia a alteraciones en el desarrollo de las estructuras encefálicas, sobre todo de la vesícula ocular.

Basándonos en los trabajos de **MURILLO FERROL (1965)** y de **BENITEZ RUBIO (1986)**, se observa como el esbozo ocular izquierdo parece ser más susceptible de alterar su morfogénesis que el derecho.

Algunos autores han tratado de explicar el por qué de la constancia de la microftalmía en el lado izquierdo. El hecho de que las microftalmías, tanto espontáneas como experimentales, sean más frecuentes en lado izquierdo se atribuyó a que el embrión de ave sufre una rotación sobre su eje longitudinal hacia el lado izquierdo, tras las primeras 48 horas de incubación, motivando ello, según **GRUENVALD (1944)**, el que el ojo de dicho lado se encuentre más separado de la superficie del huevo, recibiendo menos oxígeno, ya que en estos primeros estadios la oxigenación se hace por difusión. Sin embargo, esta tesis no

parece ser la correcta dado que ORTS LLORCA y col. (1959) han obtenido microftalmías del lado izquierdo en embriones que habían rotado hacia la derecha. Se ha pensado también en la existencia de factores genéticos que determinan la mayor resistencia del ojo derecho. Así, HARRISON (1951) al cultivar vesículas oculares *in vitro* demostró que el pigmento aparece antes en el ojo derecho.

Por otro lado, se sabe que la presión intraocular está involucrada en la morfogénesis de los diferentes tejidos oculares (COULOMBRE, 1956; PORTE y col., 1968; BEEBE y col., 1983; BEEBE, 1986).

La mayoría de las alteraciones oculares obtenidas se asociaron con alteraciones del pico.

Pensamos, al igual que RYCHTER y LEMEZ (1963) que las alteraciones oculares son secundarias a las alteraciones producidas en los arcos aórticos como consecuencia de la técnica empleada en nuestros estudios.

e) Alteración de las extremidades .

Es la única malformación presentada de forma significativa por los embriones control.

En condiciones normales, el huevo va a experimentar un natural volteo por parte de la gallina. En los casos en los que se incubaba el huevo con la idea de que nazca el pollo, éste se voltea mecánica o manualmente.

En nuestro caso, dado que los embriones fueron sacrificados en el E 35 HH, no fueron sometido a ningún tipo de volteo.

Pensamos que las alteraciones de extremidades obtenidas son debidas a la falta de volteo de los huevos durante el período de incubación.

No se puede descartar posibles modificaciones en los vasos responsables de la irrigación de las extremidades, provocadas por la técnica empleada.

f) Alteraciones del sistema nervioso central.

Hemos obtenido 2 casos de exencefalia y 1 de hidrocefalia.

En los dos casos de exencefalia cabe pensar en alguna alteración de los arcos aórticos motivada por la técnica empleada, dado que presentaron alteraciones oculares y del pico asociadas.

El caso de hidrocefalia se presentó de forma aislada. Por lo que es difícil determinar si fue debida a la técnica o si se trató de una malformación espontánea.

3.- Malformaciones cardíacas.

Las malformaciones cardíacas de la región ventricular han sido obtenidas en los grupos correspondientes a los "Testigos de tirode", "Testigos de heparina" y "Embriones operados".

La incidencia de las malformaciones fue de un 42'4% con respecto al total de embriones procesados para su estudio a MEB.

La incidencia de las malformaciones cardíacas en cada uno de los grupos fue:

- Testigos de tirode: 56% del total de embriones procesados para su estudio a MEB en este grupo.

- Testigos de heparina: 45'4% del total de embriones procesados para su estudio a MEB en este grupo.

- Embriones operados: 35'8% del total de embriones procesados para su estudio a MEB en este grupo.

La incidencia de las malformaciones cardíacas obtenidas queda recogida en la TABLA 50.

En principio no esperábamos obtener malformaciones cardíacas de modo significativo en los grupos testigo correspondientes a los "Testigos de tirode" y "Testigos de heparina". Sin embargo, la incidencia ha sido mayor que en los "Embriones operados".

El único factor que tienen en común los tres grupos, y que no podría explicar la elevada incidencia de malformaciones cardíacas en los dos grupos testigo, es el aumento de volumen producido.

TABLA 50.

**INCIDENCIA DE MALFORMACIONES
CARDIACAS.**

	EMBRIONES → MEB	EMBRIONES MALFORMADOS	% MALFORMACIONES
1. TESTIGOS DE TIRODE:	41	23	56%
Intervenidos E 22 HH: ↑ 3'5%	16	12	75%
Intervenidos E 25 HH: ↑ 1'6%	14	6	48%
Intervenidos E 29 HH: ↑ 0'9%	11	5	45%
2. TESTIGOS DE HEPARINA:	44	20	45'4%
Intervenidos E 22 HH: ↑ 1'3%	18	9	50%
Intervenidos E 25 HH: ↑ 1'6%	15	3	20%
Intervenidos E 29 HH: ↑ 0'9%	11	8	72'2%
3. EMBRIONES OPERADOS:	97	38	39'1%
En el E 22 HH.	33	8	24'2%
↑ 7%	14	3	21'4%
↑ 15%	10	2	20%
↑ 25%	9	3	33'3%
En el E 25 HH.	32	19	59'3%
↑ 7%	10	5	50%
↑ 15%	12	9	75%
↑ 25%	10	5	50%
En el E 29 HH.	32	11	34'3%
↑ 7%	12	5	41'6%
↑ 15%	12	2	16'6%
↑ 25%	8	4	50%

El motivo por el que la incidencia de las malformaciones cardíacas ha sido mayor en los dos grupos testigo que en los "Embriones operados", posiblemente sea debido a la situación de hipoxia creada como consecuencia de la hemodilución provocada al inyectar tirode y tirode + heparina. Este factor teratogénico, como ya hemos comentado, se evita al perfundir sangre de embrión de pollo en el caso de los "Embriones operados"

Dentro de los "Embriones operados" llama la atención el hecho de que el mayor número de malformaciones cardíacas se produjo en los embriones intervenido en el E 25 HH. Esto corrobora lo ya comentado con respecto a la mayor mortalidad presentada por los embriones intervenidos en este estadio, de que el E 25 HH constituye un estadio crítico en la morfogénesis del corazón.

Las malformaciones cardíacas obtenidas a nivel de la región ventricular las hemos agrupado en tres grupos principales:

- Alteración del proceso de trabeculización.
- Cardiopatía dilatada.
- Cardiopatía hipertrófica.

La incidencia de cada una de los tres grupos de malformaciones considerado fue:

- Alteraciones del proceso de trabeculización: 53 casos lo que supone un 65'4% del total de embriones malformados.
- Cardiopatía dilatada: 12 casos, lo que supone un 14'8% del total de embriones malformados.
- Cardiopatía hipertrófica: 18 casos, lo que supone 22'2% del total de embriones malformados.

En 5 ocasiones la alteración del proceso de trabeculización se presentó asociada a una cardiopatía dilatada (Ver embriones Mh 36 - LAMINA 40: Foto 5 -; Mh 37 - LAMINA 40: Foto 6 -; Mo 37 - LAMINA 48: Foto 1 -; Mo 125 y Mo 126 - LAMINA 55: Fotos 1, 2 y 3 -).

Hemos obtenido en tres ocasiones defectos septales que no fueron incluidos en ninguno de los tres grupos de malformaciones establecidos.

Así, el embrión Mo 242 sometido a un \uparrow 15% en el E 22 HH (LAMINA 44: Fotos 4, 5 y 6) presentó una comunicación interventricular alta por defecto de cierre de la *pars membranacea*. Los embriones Mo 165 sometido a un \uparrow 7% en el E 29 HH (LAMINA 55: Fotos 1 y 2) y Mo 259 sometido a un \uparrow 25% en el E 29 HH (LAMINA 60: Figura 5, fotos 6 y 7) presentaron una comunicación interinfundibular.

El número de casos y la incidencia de estos tres grupos de malformaciones cardíacas en cada uno de los grupos de embriones estudiados queda recogida en la TABLA 51.

Vuelve a llamar la atención en la TABLA 51 la mayor incidencia de los tres grupos de malformaciones considerados en los embriones operados en el E 25 HH, con respecto a los intervenidos en los estadíos 22 y 29.

Básicamente, en el grupo de malformaciones correspondiente a "Alteración del proceso de trabeculización" hemos incluido dos tipos de anomalías: 1) Retraso en el proceso de trabeculización. 2) Alteración en el patrón de trabeculización.

El retraso en el proceso de trabeculización consistió en:

TABLA 51.

**Nº DE CASOS E INCIDENCIA DE LOS
TRES GRUPOS DE MALFORMACIONES
CARDIACAS.**

	ALTERACION TRABECULIZACION	CARDIOPATIA DILATADA	CARDIOPATIA HIPERTROFICA
1. TESTIGOS DE TIRODE:	11/13'5%	2/2'4%	10/12'3%
Intervenidos			
E 22 HH: ↑ 3'5%	9/11'1%	1/1'2%	2/2'4%
Intervenidos			
E 25 H: ↑ 1'6%	1/1'2%	1/1'2%	4/4'9%
Intervenidos			
E 29 HH: ↑ 0'9%	1/1'2%	0/0%	4/4'9%
2. TESTIGOS DE HEPARINA:	15/18'5%	2/2'4%	5/6'1%
Intervenidos			
E 22 HH: ↑ 3'5%	7/8'6%	0/0%	2/2'4%
Intervenidos			
E 25 HH: ↑ 1'6%	0/0%	0/0%	3/3'7%
Intervenidos			
E 29 HH: ↑ 0'9%	8/9'8%	2/2'4%	0/0%
3. EMBRIONES OPERADOS:	26/32%	9/11'1%	3/3'7%
En el E 22 HH.	4/4'9%	2/2'4%	1/1'7%
↑ 7%	3/3'7%	1/1'2%	0/0%
↑ 15%	0/0%	0/0%	0/0%
↑ 25%	1/1'7%	1/1'7%	1/1'7%
En el E 25 HH.	14/17'2%	4/4'9%	2/2'4%
↑ 7%	4/4'9%	1/1'7%	1/1'7%
↑ 15%	7/8'6%	1/1'7%	1/1'7%
↑ 25%	3/3'7%	2/2'4%	0/0%
En el E 29 HH.	8/9'8%	3/3'7%	0/0%
↑ 7%	3/3'7%	3/3'7%	0/0%
↑ 15%	2/2'4%	0/0%	0/0%
↑ 25%	3/3'7%	0/0%	0/0%

- Presencia de trabéculas inmaduras así como de numerosos cordones trabeculares (LAMINA 31: Foto 3; LAMINA 52: Foto 6; LAMINA 58: Fotos 3 y 4).

- Existencia de abundantes espacios intercelulares en el espesor del miocardio trabecular (LAMINA 41: Fotos 3 a 5; LAMINA 48: Fotos 5 y 6; LAMINA 52: 2, 3 y 4).

- Amplios espacios endomiocárdicos ricos en matriz extracelular (LAMINA 41: Fotos 3 a 5; LAMINA 48: Fotos 5 y 6; LAMINA 52: Fotos 3 y 4).

- Retraso en el proceso de compactación de las trabéculas a las paredes libres ventriculares así como en la compactación de las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare* (LAMINA 31: Fotos 4 a 6; LAMINA 33: Fotos 1 a 3; LAMINA 36: Fotos 3 y 4; LAMINA 37: Fotos 1 a 7; LAMINA 38: Fotos 3 a 6; LAMINA 40: Fotos 1 y 2; LAMINA 41: Fotos 1 y 2; LAMINA 43: Fotos 2 y 3; LAMINA 60: Foto 2).

La alteración en el proceso de trabeculización estribó en la presencia de trabéculas anómalas y de patrones trabeculares atípicos en ambos ventrículos, tanto por la morfología como por la orientación de las trabéculas (LAMINA 40: Fotos 3 y 4; LAMINA 44: Fotos 1 a 3; LAMINA 46: Fotos 1 y 2; LAMINA 48: Foto 1 y 2; LAMINA 52: Fotos 5 a 8; LAMINA 53: Fotos 1 y 2; LAMINA 56: Fotos 1 y 2; LAMINA 58: Fotos 1 y 2; LAMINA 60: Fotos 3 y 4).

En numerosos casos hemos observado un retraso en la remodelación de los infundíbulos aórtico (LAMINA 36: Foto 1; LAMINA 37: Fotos 1 a 5; LAMINA 53: Fotos 5 y 6) y pulmonar

(LAMINA 31: Foto 1; LAMINA 36: Fotos 5 y 6; LAMINA 38: Fotos 3 a 6; LAMINA 58: Fotos 3 y 4), consistente en la presencia de invaginaciones del endocardio, e incluso en la presencia de trabéculas.

Basándonos en los trabajos que estudian la influencia de los factores hemodinámicos en la morfogénesis cardíaca y cómo la modificación de dichos factores va a estar relacionadas con la génesis de las malformaciones cardíacas congénitas (Ver INTRODUCCION), así como en nuestras observaciones, pensamos que tanto el retraso como la alteración en el proceso de trabeculización, pueden ser debidos a un cambio en la distribución de las corrientes sanguíneas provocado por el aumento de volumen practicado, que a su vez va a dar lugar a un desequilibrio entre la presión y el volumen intracavitarios. Este desequilibrio va a modificar tanto la expansión ventricular como el proceso de trabeculización.

En los tratados clásicos de Cardiología Pediátrica se describen las cardiopatías hipertrófica y dilatada del feto y del recién nacido.

Sin embargo, no hemos encontrado bibliografía sobre la incidencia o la etiopatogenia de dichas malformaciones cardíacas congénitas.

En el grupo de malformaciones correspondiente a "Cardiopatía dilatada" hemos incluido aquellos corazones que presentaron un aumento del volumen de una o de ambas cámaras ventriculares, sin que se hubiera producido un aumento relativo en el espesor de la pared. Como ejemplo representativo de este grupo véase el embrión

Mo 293 (LAMINA 45: Fotos 1 y 2).

Dentro de las "Cardiopatías hipertróficas, hemos incluido los corazones que presentaron un aumento en el espesor de la pared sin que se hubiera producido aumento de la cavidad ventricular. Como ejemplo representativo de este grupo véase el embrión **Mo 2 (LAMINA 50: Fotos 1 a 5).**

En ocasiones, hemos obtenido corazones en los que se había producido tanto un aumento de la cámara ventricular como de la pared. Se podrían considerar como "cardiopatías mixtas". Como ejemplo representativo véase el embrión **Mo 10 (LAMINA 51: Fotos 1, 2 y 3).**

Las cardiopatías hipertrófica, dilatada y mixta, obtenidas por nosotros, podrían corresponderse con los tres modelos de modificación del patrón trabecular obtenidos por **BENITEZ RUBIO (1986), PEREZ DE MIGUELSANZ (1987) y TABORDA LOPEZ (1990)** ya descritos al comienzo de este apartado de malformaciones cardíacas.

La cardiopatía hipertrófica presentó una incidencia algo mayor, 22'2%, que la dilatada, 14'8%. Sin embargo no hemos observado diferencias significativas en la incidencia de ambas anomalías en los diferentes grupos estudiados.

La cardiopatía dilatada afectó en 8 ocasiones al ventrículo izquierdo, en 3 ocasiones a ambos ventrículos, y en 1 ocasión al ventrículo derecho.

La cardiopatía hipertrófica afectó en 6 ocasiones al ventrículo izquierdo, en 6 ocasiones a ambos ventrículos y en 5 ocasiones al *septum interventriculare* exclusivamente.

Una de las principales características del corazón es su posibilidad de adaptarse a los cambios hemodinámicos tanto agudos

como crónicos.

Ante una sobrecarga hemodinámica crónica motivada por una cardiopatía congénita el tipo de respuesta va a depender de la edad del individuo. En el adulto, el corazón va a compensar la sobrecarga funcional crónica a través de una hipertrofia del miocardio (BUGAISKY y col., 1986; HAMRELL y col., 1986). En el joven, el corazón va a responder tanto con una hiperplasia como con una hipertrofia del miocardio (RAKUSAN, 1966; RAKUSAN, 1984). Sin embargo, poco se sabe sobre la respuesta del corazón embrionario (FISHMAN y col., 1978; CLARK y col., 1989).

NODEN y LAHUNTA (1990), en su "Embriología de los animales domésticos", proponen que como consecuencia de la cardiopatía congénita, lesión primaria, se van a producir una serie de lesiones o respuestas secundarias en el corazón. Los dos cambios más relevantes que pueden producirse de modo secundario a la anomalía cardíaca son: la dilatación de sus cavidades y la hipertrofia de sus paredes. La dilatación se produce si el volumen de sangre de una cavidad se mantiene elevado por una disminución en la salida o por un aumento en la entrada. La hipertrofia del miocardio se va a producir cuando la fuerza muscular necesaria para llevar a cabo la contracción y vaciado de una cavidad se mantiene más alta de lo normal de una forma crónica.

Se han realizado numerosos estudios sobre los mecanismos responsables de las cardiopatías hipertrófica y dilatada, pero únicamente en el adulto (BRAUNWALD, 1991; WEBER, 1989; WEBER y col., 1990; ANVERSA y col., 1986; ELIMBAN y col., 1987; HONDA y col., 1989; WEBER y BRILLA, 1991; HORT, 1990; JACOB y col., 1990).

BRAUNWALD (1991) en la cardiopatía hipertrófica describe que además del crecimiento miocítico, consecuencia de la sobrecarga funcional mantenida, se observa un aumento del espacio intersticial derivado de la hiperplasia de los fibroblastos y del excesivo depósito de formas alteradas de colágeno. La desaparición quirúrgica o farmacológica de la sobrecarga hemodinámica, suele conducir a la regresión parcial de la hipertrofia miocítica, pero no necesariamente al de la proliferación intersticial.

WEBER (1989) observa como en los procesos hipertróficos secundarios a una sobrecarga de presión mantenida, aumenta la síntesis del colágeno, proliferan los fibroblastos y se producen cambios estructurales y bioquímicos en la matriz extracelular. Estos incluyen diferentes patrones de fibrosis miocárdica reactiva y reparativa, alguno de los cuales altera la rigidez miocárdica existente durante los procesos de sístole y diástole pudiendo conducir a una hipertrofia patológica. En cambio, la pérdida de las conexiones que establece el colágeno entre las células y haces musculares o la disminución de la resistencia a la tensión que presenta la matriz extracelular pueden ser los responsables de las transformaciones globales o regionales de la arquitectura miocárdica que se observan en las cardiopatías dilatadas.

WEBER y col. (1990) proponen que el adelgazamiento o engrosamiento del miocardio producido respectivamente cuando crece excéntrica (Cardiopatía dilatada) o concéntricamente (Cardiopatía hipertrófica), probablemente requiere el deslizamiento entre las fibras musculares además de la interrupción de las conexiones que establece el colágeno tipo I

y III entre los haces musculares (Fig. 5).

WEBER y BRILLA (1991) sugieren que en la hipertrofia miocítica y en la hipertrofia ventricular izquierda, son independientes el crecimiento de los miocitos por un lado y el crecimiento de los fibroblastos y aumento de la síntesis de colágeno por otro.

HORT (1990) propone que durante la diástole fisiológica el aumento de los diámetros lineales del corazón se corresponde con un estiramiento de los sarcómeros. En la dilatación aguda se produce un estiramiento adicional de los sarcómeros, siendo las fibras de colágeno epicárdicas y pericárdicas las que determinan la extensión máxima. Sin embargo, los mecanismos encontrados en la dilatación crónica son diferentes. En este caso los sarcómeros no aumentan en longitud. El crecimiento longitudinal de las fibras musculares y los cambios en la disposición de las fibras musculares podrían explicar los cambios estructurales que se producen durante el desarrollo de la dilatación crónica. Existen varias causas de dilatación crónica. Las principales son la hipertensión descompensada, el infarto miocárdico crónico y la cardiomiopatía dilatada. Según cual sea la causa de la dilatación crónica van a variar los hallazgos macroscópicos, microscópicos y ultraestructurales encontrados. Casi todos los corazones con dilatación crónica están hipertrofiados. Hasta el momento, no se conocen los mecanismos morfológicos responsables de la dilatación crónica.

Basándonos en nuestros resultados, pensamos que la modificación de los factores hemodinámicos durante el período de morfogénesis cardíaca es un factor determinante en la producción de malformaciones cardíacas congénitas, así como en el de las

cardiopatías hipertrófica y dilatada.

El por qué se produce la cardiopatía hipertrófica y no la dilatada, y viceversa, no lo podemos establecer con el estudio realizado.

Las alteraciones de la matriz extracelular observadas en las cardiopatías hipertrófica y dilatada del adulto, que explican en parte los mecanismos responsables de estas anomalías, se van a producir también en las cardiopatías obtenidas por nosotros en el embrión.

Actualmente, los embriones que procesamos para su análisis a MO, están siendo teñidos y marcados con técnicas específicas para estudiar el colágeno (Picrosirium red, plata metenamina, anticuerpos frente al colágeno)

Por otro lado, ante los resultados de TABORDA LOPEZ (1991) en su estudio a MET de los corazones obtenidos ligando los vasos vitelinos, en los que comprueba alteraciones en la estructuración y ensamblaje de las miofibrillas de los mioblastos ventriculares presentando una disposición anárquica, así como alteraciones nucleares y citoplasmáticas, en una siguiente fase vamos a procesar nuestros corazones operados para su estudio a MET, ya que sospechamos que junto a las alteraciones de la matriz extracelular, se producen también trastornos en la diferenciación de los mioblastos.

Para terminar, vamos a hacer un breve comentario sobre los defectos septales obtenidos.

La comunicación interventricular alta presentada por el embrión **Mo 242** sometido a un \uparrow 15% en el E 22 HH (**LAMINA 44: Fotos 4, 5 y 6**) se debió a un defecto de cierre de la pars membranacea. Posiblemente un trastorno en la fusión de los cojinetes endocárdicos dio lugar a un defecto en la participación del tubérculo derecho en el cierre de esta porción del tabique.

Las comunicaciones interinfundibulares presentadas por los embriones **Mo 165** (**LAMINA 55: Fotos 1 y 2**) y **Mo 259** (**LAMINA 60: Figura 5, fotos 6 y 7**), creemos que son debidas a un defecto en el desarrollo del rodete izquierdo. Ambos embriones fueron operados en el E 29 HH, siendo los rodetes las únicas estructuras que quedan por fusionarse en dicho estadio, lo que explicaría su defecto de fusión.

Numerosos autores están de acuerdo con la hipótesis de que los rodetes bulbares son estructuras altamente plásticas que permiten deformaciones cuando se produce un desequilibrio hemodinámico en el interior del corazón embrionario (**BREMER, 1929 y 1931/1932; JAFFEE, 1963, 1965, 1966, 1978 y 1979; ORTS LLORCA y RUANO GIL, 1967; MANASEK y MONROE, 1972**).

Así pues, una discrepancia de presiones entre las corrientes sanguíneas podría ser la base hemodinámica del desarrollo de defectos septales ventriculares, así como de alteraciones en el desarrollo y fusión de los rodetes bulbares.

Sin embargo, el elevado porcentaje de defectos septales y bulbares obtenidos por otros autores utilizando distintas técnicas y productos, y que atribuyen un papel fundamental a los factores hemodinámicos alterados en la producción de las

malformaciones obtenidas, no concuerda con el bajo porcentaje en que los hemos obtenido nosotros (Intervenciones sobre el polo arterial: MANHOFF y JOHNSON, 1951; RYCHTER y LEMEZ, 1957, 1958; GESSNER, 1966 y 1978; GESSNER y VAN MIEROP, 1970; CLARK y ROSENQUIST, 1978; CLARK y col., 1984; COLVEE y HURLE, 1985; ARANEGA y col., 1985. Intervenciones sobre el polo venoso: JAFFEE, 1965; ROHR y VAUPEL, 1975. Intervenciones directas sobre el corazón: DOMENECH y REIG, 1980. Empleo de factores teratógenos físicos y químicos: DE LA CRUZ y col., 1966; JAFFEE, 1976; JAFFEE, 1971 y 1976; GILANI y JAFFEE, 1971; GILANI y SILVESTRI, 1977; KUHLMANN y col., 1983; RAJALA y col., 1984a y 1984b; BRUYERE y col., 1984; CAMERON y col., 1984; MATSUOKA y col. 1984).

Al igual que CAMERON y col. (1984), BENITEZ RUBIO (1986) y PEREZ DE MIGUELSANZ (1987), pensamos que la diferencia entre el alto porcentaje de defectos septales ventriculares y de defectos bulbares obtenido por los distintos autores y el bajo porcentaje obtenido por nosotros, sea debido a los diferentes modos de actuar sobre la morfogénesis cardíaca. Así, exceptuando nuestro grupo, todos actúan directamente sobre el corazón, con lo cual al factor hemodinámico se le añade el mecánico, y quizás éste último al modificar los movimientos morfogenéticos del corazón condicione la aparición de los defectos septales.

El escaso número de defectos septales obtenidos frente a la elevada incidencia de alteraciones en el proceso de trabeculización, así como de cardiopatías hipertrófica y dilatada al provocar un aumento del volumen total circulante, nos hace dudar de la clásica teoría que sostiene que "las cardiopatías

hipertrófica y dilatada son secundarias a una sobrecarga hemodinámica crónica motivada por una cardiopatía congénita", que es considerada la lesión primaria.

No debe de descartarse la idea de que en algunos casos la lesión primaria sea la cardiopatía hipertrófica y/o dilatada, y de modo secundario o asociado se haya producido el defecto cardíaco.

Así, hay casos descritos de alteraciones a nivel del cordón umbilical (KASPRZAK y GERBER, 1967; LEINZINGER, 1969; MONIE y KHEMMANI, 1973; KONSTANTINOVA, 1977; BRADY, 1983; GHOSH y col., 1984; HEIFETZ, 1984; BYRNE y BLANC, 1985; BELL y col., 1986; BLICKSTEIN y col., 1987; CHEN y col., 1987; RICKLAN y col., 1988; GNIRS y col., 1988; PHILIPPE, 1989) y de la placenta (FOK y col., 1990) que podrían provocar de forma primaria el trastorno hemodinámico responsable de la producción de la cardiopatía hipertrófica y/o dilatada.

CONCLUSIONES

I . DE LA TECNICA

1 . — La técnica empleada es buena para evitar la hipoxia provocada por la hemodilución.

2 . — Los corazones cortados por congelación proporcionan mayor información que los cortados a temperatura ambiente mediante el empleo de una cuchilla, para el estudio de los espacios endomiocárdicos de la matriz extracelular, así como de los espacios intercelulares existentes entre los miocitos.

II . DEL PROCESO DE TRABECULIZACION

3 . — En el E 18 HH, al plegamiento de la capa profunda se ha sumado la perforación de la misma, dando lugar a la formación de numerosos orificios que van a permitir a la sangre irrigar en todo su espesor a la pared miocárdica. Este hecho podría explicar el significado funcional de la trabeculización durante los primeros estadios del desarrollo.

4 . — El proceso de trabeculización progresa más dorsal que ventralmente, siendo mayor la zona trabeculada del fragmento dorsal que la del ventral. Este hecho parece estar relacionado: 1) Un mayor crecimiento de las porciones distal del ventrículo primitivo y proximal del *conus cordis* en sentido dorsocaudal. 2) Con el crecimiento del canal aurículoventricular. 3) Con el desplazamiento del *conus cordis*. 4) Con el inicio del proceso de coalescencia trabecular en la porción ventral.

5 . — En el E 18 HH aparecen los "haces trabeculares secundarios" o "trabéculas primitivas transversales" tanto en la zona trabeculada de la porción proximal del *conus cordis*, donde van a persistir al menos hasta el E 24 HH, como en la zona trabeculada de la porción distal del ventrículo primitivo, donde van a permanecer al menos hasta el E 35 HH de corazón maduro.

6 . — No deben de confundirse las siguientes estructuras entre sí:

- Trabéculas transversales: están constituidas por miocardio revestido por endocardio; experimentan una remodelación durante el proceso de trabeculización, pero van a persistir.

- Cordones trabeculares o celulares: están constituidos exclusivamente por células endocárdicas; se originan durante el proceso de remodelación de las trabéculas; van a terminar rompiéndose y desapareciendo.

- Puentes intercelulares: se producen durante el proceso de invaginación del endocardio, surgiendo entre dos células endocárdicas; van a terminar rompiéndose y desapareciendo.

7 . — La banda moderatriz se va a originar a partir del *septum interventriculare*. Así, coincidiendo con la fusión de los bordes libres de las láminas sagitales que van a dar lugar al *septum interventriculare* en el E 21 HH, se empieza a formar la banda moderatriz, encontrándose perfectamente definida en el E 24 HH.

8 . — Las "trabéculas secundarias" se observan por primera vez en el E 21 HH, localizadas básicamente en la porción proximal

del *conus cordis*, futura zona trabeculada del ventrículo derecho. Pese a que en estadios posteriores se van a observar en el ventrículo izquierdo, van a circunscribirse cada vez más al ventrículo derecho, apenas observándose en el izquierdo.

9 . — El patrón trabecular difiere en ambos ventrículos:

- Hasta el E 20 HH no se observan diferencias entre las porciones trabeculadas del *conus cordis* y del ventrículo primitivo. A partir de este estadio comienza a evidenciarse el diferente crecimiento centrífugo que experimentan ambos ventrículos. Mientras el ventrículo derecho va a expandirse siguiendo un eje transversal y oblicuo con respecto al *septum interventriculare*, el ventrículo izquierdo lo hace según un eje longitudinal anteroposterior.

- Como resultado del diferente crecimiento centrífugo, va a variar la disposición arquitectural de las trabéculas. Mientras en el ventrículo izquierdo conservan la orientación dorsoventral inicial, en el ventrículo derecho van a orientarse de manera semicircular, aproximándose por su borde libre y separándose por su borde parietal.

- Al mismo tiempo van a presentar diferencias morfológicas. En el ventrículo izquierdo presentan la forma de láminas altas, engrosadas por su borde libre. las caras de las láminas son lisas cerca de su borde libre y trabeculadas cerca de su borde parietal. Presenta pocas trabéculas secundarias y ninguna transversal a partir del E 24 HH. En el ventrículo derecho son más pequeñas y delgadas. Presenta numerosas trabéculas secundarias y transversales.

- En el E 35 HH el patrón trabecular del ventrículo

izquierdo se presenta más regular que el del ventrículo derecho. Presenta unas trabéculas gruesas, redondeadas, entre las que se intercalan algunas trabéculas más delgadas, existiendo espacios intertrabeculares entre las mismas. Se van a disponer más o menos longitudinalmente siguiendo el eje mayor del ventrículo, teniendo por centro la cámara de salida ventricular. En el ventrículo derecho las trabéculas son más delgadas, mostrando una fina red de cordones trabeculares en su superficie. Las trabéculas se disponen siguiendo un semicírculo cuyos extremos coinciden con los anclajes ventral y dorsal del *septum interventriculare*.

10 . — La pared posterior del infundíbulo aórtico va a experimentar un proceso de remodelación trabecular que finaliza hacia el E 33 HH. Probablemente guarde relación con la fusión de los cojinetes endocárdicos para formar el *septum intermedium*.

11 . — El foramen secundum se localiza tanto en la mitad dorsal como en la mitad ventral del *septum interatriale*.

III . FORMACION DEL *SEPTUM INTERVENTRICULARE*

12 . — En el origen del *septum interventriculare* coexisten tanto la "teoría de la expansión ventricular" como la "teoría de la coalescencia trabecular".

13 . — En el E 20 HH se inicia la formación del *septum interventriculare*. En la zona trabeculada de la porción ventral

del corazón, como consecuencia de la menor expansión que experimenta con respecto a la porción dorsal, un número determinado de 4 ó 5 trabéculas se van a aproximar y fusionar por su bordes libres, dando lugar al cuerno ventral del *septum interventriculare*.

14 . — En los estadíos 21, 22 y 23 HH se produce una progresión en sentido ventrodorsal del proceso de fusión de los bordes libres, permaneciendo separadas a nivel de su implantación en la pared ventricular. Hasta este momento, la aproximación y posterior fusión de las láminas trabeculares que van a constituir el *septum* se produce como consecuencia del proceso continuado de trabeculización asociado al crecimiento centrífugo de las bolsas trabeculares.

15 . — Va a ser a partir del E 24 HH, una vez constituido el cuerno dorsal del *septum interventriculare*, cuando se aprecie una menor expansión de la capa superficial del miocardio interventricular, disminuyendo los espacio existentes entre las láminas trabeculares y comenzando su fusión a nivel caudal. En el E 28 HH prácticamente ha concluido el proceso de coalescencia.

16 . — El *septum interventriculare* va a aumentar de grosor por un "proceso de compactación". Este proceso va a ser mayor por su cara izquierda.

IV. MALFORMACIONES

17 . — Las malformaciones morfológicas externas obtenidas, a excepción de las alteraciones en el desarrollo de las extremidades que son espontáneas, son debidas a la influencia directa de la técnica empleada.

18 . — Los embriones operados en el E 25 HH presentaron la mayor mortalidad y la mayor incidencia de malformaciones cardíacas, lo que corrobora nuestra idea de que el E 25 HH constituye un período crítico en la morfogénesis del corazón.

19 . — La elevada incidencia de malformaciones cardíacas presentada por los grupos correspondientes a los "Testigos de tirode" y "Testigos de heparina" no se puede explicar únicamente por el aumento de volumen producido, sino también por la situación de hipoxia creada como consecuencia de la hemodilución provocada al inyectar tirode y tirode + heparina.

20 . — La alta incidencia de malformaciones cardíacas presentada por el grupo correspondiente a los "Embriones operados" es debida al aumento de volumen producido y no a una situación de hipoxia que se evita al perfundir sangre de embrión de pollo.

21 . — Las malformaciones cardíacas obtenidas a nivel ventricular consistieron básicamente en una fuerte modificación en el desarrollo del miocardio. Fueron las siguientes:

- Alteraciones en el proceso de trabeculización consistieron en:

- Retraso en el proceso de trabeculización basado en la presencia de: trabéculas inmaduras, numerosos cordones trabeculares, abundantes espacios intercelulares en el espesor del miocardio trabecular, amplios espacios endomiocárdicos ricos en matriz extracelular, así como en un retraso en el proceso de compactación de las trabéculas a las paredes libres ventriculares, de las trabéculas que constituyen el *septum interventriculare* y del proceso de remodelación del infundíbulo aórtico.

- Presencia de trabéculas anómalas y de patrones trabeculares atípicos en ambos ventrículos, tanto por la morfología como por la orientación de las trabéculas.

- Cardiopatías dilatadas, consistieron en un aumento de volumen de una o de ambas cámaras ventriculares, sin que se hubiera producido un aumento relativo en el espesor de la pared miocárdica.

- Cardiopatías hipertróficas, consistieron en un aumento en el espesor de la pared miocárdica sin que se hubiera producido un aumento de la cavidad ventricular.

22 . - La modificación de los factores hemodinámicos durante el período de morfogénesis cardíaca puede ser un factor determinante en la producción de ciertas malformaciones cardíacas como las cardiopatías hipertrófica y dilatada del recién nacido.

23 . — Las alteraciones de la matriz extracelular observada en las cardiopatías hipertrófica y dilatada del adulto, que explican en parte los mecanismos responsables de estas anomalías, se van a producir también en las obtenidas por nosotros durante el período embrionario.

24 . — Ante el escaso número de defectos septales obtenidos frente a la elevada incidencia de alteraciones en el proceso de trabeculización, así como de cardiopatías hipertrófica y dilatada al provocar un aumento del volumen total circulante, no debe descartarse la posibilidad de que en ocasiones la lesión primaria sea la cardiopatía hipertrófica y/o dilatda, y de modo secundario o asociado se haya producido un defecto de la septación cardíaca.

VERIFICADA EN EL DIA DE HOY LA LECTURA DE LA TESIS

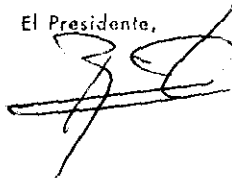
TITULADA INFLUENCIA DEL AUMENTO DEL FLUJO SANGUINEO
EN LA REMODELACION DEL MIOCARDIO DEL EMBRION DE
AVE: ANALISIS A MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO
DE LA QUE ES AUTOR DON JORGE ALFONSO.....

MURILLO GONZALEZ.....

OBTUVO POR ^{UNANIMIDAD} MAYORIA LA CALIFICACION DE.....

Madrid, 7 de JUNIO de 1993

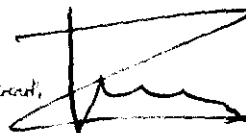
El Presidente,



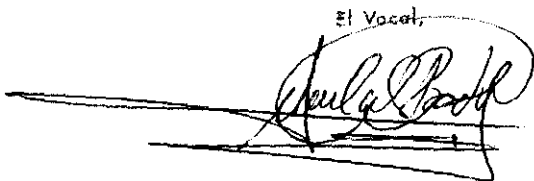
El Vocal,



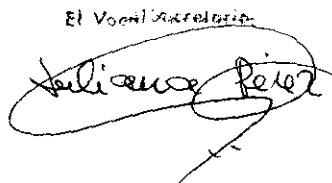
El Vocal,



El Vocal,



El Vocal Secretario



BIBLIOGRAFIA

ABELMANN WH:

"Incidence of dilated cardiomyopathy".
Postgrad Med J, 1985; 61: 1123-1124.

ALI IU, y HYNES RO:

"Effects of LETS glycoprotein on cell motility".
Cell, 1978; 14: 439-446.

ANVERSA P, OLIVETTI G, y LOUD AV:

"Morphometric studies of left ventricular hypertrophy".
En: *Cardiac Hypertrophy in Hypertension*, editado por R.C. Tarazi
y J.B. Dunbar. New York: Raven, 1983, pág. 27-39.

ANVERSA P, RICCI R, y OLIVETTI G:

"Quantitative structural analysis of the myocardium during
physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: A review".
J AM Coll Cardiol, 1986; 7: 1140-1149.

ARANEGA A, EGEA J, ALVAREZ L, y ARTEAGA M:

"Tetralogy of Fallot produced in chick embryos by mechanical
interference with cardiogenesis".
Anat Rec, 1985; 213: 560-565.

ARCILLA RA:

"Role of intracardiac streaming upon early cardiac
development".
*Cardiovascular and respiratory physiology in the fetus and
neonate*, 1986; 133: 33-45.

AREY LB:

Developmental Anatomy, editado por W.B. Saunders Co.
Philadelphia, 1965, pág. 378.

ARGUELLO C, DE LA CRUZ MV, y SANCHEZ-GOMEZ C:

"Experimental study of the formation of the heart tube in the
chick embryo".
J Embryol exp Morphol, 1975; 33: 1-11.

ARIAS M, y VILLAR JM:

"Ultrastructural analysis of chick embryo blastoderms
explanted in vitro in absence of endoderm".
Acta Anat, 1987; 128: 127-132.

ARTEAGA M, DE LA CRUZ MV, SANCHEZ C, y DIAZ GF:

"Double outlet right ventricle: experimental morphogenesis in
the chick embryo heart".
Ped Cardiol, 1982; 3: 219-227.

ARTEAGA M, GARCIA-PELAEZ I, y FERNANDEZ-ESPINO R:

"Truncus arteriosus y saco aórtico. Arcos aórticos. Morfología normal de las grandes arterias y válvulas sigmoideas".

Monocardio, 1984; 80: 60-71.

BACON RL:

"Self-differentiation and induction of the heart of *Amblystoma*".
J Exp Zool, 1945; 98: 87.

BEEBE DC:

"Development of ciliary body: A brief review".

Trans Ophth Soc UK, 1986; 105: 123-130.

BEEBE DC, LATKER CH, JOHNSON MC, y JEBENS HAH:

"Evidence for an active fluid transport system during early ocular development in chicken".

Invest Ophth Vis Sci, 1983; 24: 153.

BELL AD, GERLIS LM, y VARIEND S:

"Persistent right umbilical vein: case report and review of the literature".

Int J Cardiol, 1986; 10: 167-176.

BEN-SHACHAR G, ARCILLA RA, LUCAS RV, y MANASEK FJ:

"Ventricular trabeculation in the chick embryo heart and their contribution to ventricular and muscular septal development".

Circ Res, 1985; 57: 759-766.

BENITEZ RUBIO MR:

"Análisis experimental de la influencia del factor hemodinámico en la septación cardíaca: supresión del flujo a través de los vasos vitelinos".

Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1986.

BERNANKE DH, y MARKWALD RR:

"Effects of hyaluronic acid on cardiac cushion tissue cells in collagen matrix culture".

Tex Rep Biol Med, 1979; 39: 271-285

BLICKSTEIN I, SHOHAM Z, y LANCET M:

"Predisposing factors in the formation of true knots of the umbilical cord: analysis of morphometric and perinatal data".

Int J Gynaecol Obstet, 1987; 25: 395-398.

BOCKMAN DE, REDMOND ME, y KIRBY ML:

"Alteration of early vascular development after ablation of cranial neural crest".

Anat Rec, 1989; 225: 209-217.

BOLENDER DL, y MARKWALD RR:

"Epithelial mesenchymal transformation in chick atrioventricular cushion morphogenesis".

Scanning Electron Microsc, 1979; III: 313-322.

BORG TK, y CAULFIELD JB:

"The collagen matrix of the heart".

Fed Proc, 1981; 40: 2037-2041.

BORG TK, GAY RE, y JOHNSON LD:

"Changes in the distribution of fibronectin and collagen during development of the neonatal rat heart".

Collagen Rel Res, 1982; 2: 211-218.

BOUCAUT JC, DARRIEBERE T, BOULEKBACHE H, y THIERY JP:

"Prevention of gastrulation but not neurulation by antibodies to fibronectin in amphibian embryos".

Nature, Lond. 1984; 307: 364-367.

BRADY AG:

"Knotted umbilical cords as a cause of death in a *Cercopithecus aethiops* fetus".

Lan Anim Sci, 1983; 33: 375-376.

BRAUNWALD E:

"Enfermedades del aparato cardiovascular. 173 Biología celular y molecular de las enfermedades cardiovasculares".

En: *Harrison. Principios de Medicina Interna*, editado por J.D. Wilson, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, R.G. Petersdorf, J.B. Martin, A.S. Fauci y R.K. Root. Interamericana-McGraw-Hill, 12ª ed., 1991, Vol.I, pág. 975-976.

BREMER JL:

"Experiments on the aortic arches in the chick".

Anat Rec, 1927/28; 37(3): 225-254.

BREMER JL:

"The influence of the blood stream on the development of the the heart".

Anat Rec, 1929; 42: 6.

BREMER JL:

"The presence and influence of two spiral streams in the heart of the chick embryo".

Am J Anat, 1931/32; 49(3): 409-440.

BRONNER-FRASER M:

"Alterations in neural crest migration by a monoclonal antibody that affects cell adhesion".

J Cell Biol, 1985; 101: 610-617.

BRONNER-FRASER M:

"An antibody to a receptor for fibronectin and laminin perturbs cranial neural crest development in vivo".

Dev Biol, 1986; 117: 528-536.

BRUYERE HJ, FOLTS JD, y GILBERT EF:

"Hemodynamic mechanisms in the pathogenesis of cardiovascular malformations in the chick embryo: cardiac function changes following epinephrine stimulation in chick embryos".

En: *Congenital Heart Disease: Causes and Processes*, editado por J.J. Nora y A. Takao. New York. Futura Publishing Co., 1984, pág. 279-292.

BUGAISKY L, y ZAK R:

"Biological mechanisms of hypertrophy".

En: *The Heart and Cardiovascular System*, editado por H.A. Fozzard, E. Haber, R.B. Jennings, A.M. Katz, y H.E. Morgan. New York: Raven, 1986, pág. 1491-1506.

BUTLER JK:

"An experimental analysis of cardiac loop formation in the chick".

Master's Thesis. University of Texas (U.S.A.), 1952.

BYRNE J, y BLANC WA:

"Malformations and chromosome anomalies in spontaneously aborted fetuses with single umbilical artery".

Am J Obstet Gynecol, 1985; 151 (3): 340-343.

CAIN JR, ABBOTT UK, y ROGALLO VL:

"Heart rate of the developing chick embryo".

Proc Soc Exp Biol Med, 1967; 126: 507-510.

CAMERON RH, KOLESARI GL, y RAJALA GM:

"Elevated blood pressure in the embryonic chick induced by a teratogenic dose of dextroamphetamine sulfate".

Teratology 1984; 29: 87-92.

CAMPBELL KA, HU N, CLARK EB, y KELLER BB:
"Analysis of dynamic atrial dimension and function during early cardiac development in the chick embryo".
Pediatr Res, 1992; 32: 333-337.

CASTRO-QUEZADA A, NADAL-GINARD B, y DE LA CRUZ MV:
"Experimental study of the formation of the bulboventricular loop in the chick".
J Embryol exp Morphol, 1972; 27: 623-637.

CAULFIELD JB, y BORG TK:
"The collagen network of the heart".
Lab Invest, 1979; 40: 364-372.

CLARK EB:
"Effect of inflow stream alteration on the morphogenesis of the chick heart".
Anat Rec, 1969; 163: 170.

CLARK EB:
"Hemodynamic control of the chick embryo cardiovascular system".
En: *Congenital Heart Disease: Causes and Processes*, editado por J.J. Nora y A. Takao. New York. Futura Publishing Co., 1984, pág. 377-386.

CLARK EB, y HU N:
"Developmental hemodynamic changes in the chick embryo from stage 18 to 27".
Circ Res, 1982; 51: 810-815.

CLARK EB, HU N, DUMMETT JL, VANDEKIEFT GK, OLSON C, y TOMANEK R:
"Ventricular function and morphology in chick embryo from stages 18 to 29".
Am J Physiol, 1986; 19: 407-413.

CLARK EB, HU N, FROMMELT P, VANDEKIEFT GK, DUMMETT JL, y TOMANEK R:
"Effect of increased pressure on ventricular growth in stage 21 chick embryos".
Am J Physiol, 1989; 257: 55-61.

CLARK EB, HU N, y ROSENQUIST GC:
"Effect of conotruncal constriction on aortic-mitral valve continuity in the stage 18, 21 and 24 chick embryo".
Am J Cardiol, 1984; 53: 324-327.

CLARK EB, y ROSENQUIST GC:

"Spectrum of cardiovascular anomalies following cardiac loop constriction in the chick embryo".

En: *Birth Defects: Original Article Series*. The National Foundation, 1978, vol XIV, 7: 431-442.

COULOMBRE AJ:

"The role of intraocular pressure in the development of the chick eye: I. Control of eye size.

J Exper Zool, 1956; 133: 211-225.

CRITCHLEY DR, ENGLAND MA, WAKELY J, y HYNES RO:

"Distribution of fibronectin in the ectoderm of gastrulating chick embryos".

Nature, Lond. 1979; 280: 498-500.

CROSSIN KL, y HOFFMAN S:

"Expression of adhesion molecules during the formation and differentiation of the avian endocardial cushion tissue".

Dev Biol, 1991; 145: 277-286.

CHANG C:

"The formation of the interatrial septum in chick embryos".

Anat Rec, 1931; 50: 9-22.

CHEN SZ, TESHIMA H, MATSUOKA R:

"Fetal supraventricular tachycardia associated with a true knot of umbilical cord".

Asia Oceania J Obstet Gynaecol, 1987; 13: 69-74.

DAWSON R, MILNE G, y WILLIAMS RB:

"Changes in the collagen of rat heart in copper-deficiency-induced cardiac hypertrophy".

Cardiovasc Res, 1982; 16: 559-565.

DAVIS CL:

"The cardia jelly of the chick embryo".

Anat Rec, 1924; 27: 201-202.

DAVIS CL:

Development of the human heart from its first appearance to the stage found in embryos of twenty paired os somites".

En: *Carnegie Institution of Washington: Contribution to Embryology*. Washington, 1927, vol. 19, pág. 245.

DE HAAN RL:

"Cardia bifida and the development of pacemaker function in the early chick heart".

Dev Biol, 1959; 1: 586-602.

DE HAAN RL:

"Organization of the cardiogenic plate in the early chick embryo".

Acta Embryol Exp Morph (Palermo), 1963a; 6: 26.

DE HAAN RL:

"Migration patterns of de precardiac mesoderm in the early chick embryo"

Exp Cell Res, 1963b; 29: 544.

DE HAAN RL:

"Oriented cell movements in embryogenesis".

En: *Biological Organization at the Cellular and Supracellular Level*, editado por R.J.C. Harris. London, Academic Press, 1963c, pág. 147.

DE HAAN RL:

"Development of pacemaker tissues in the embryonic heart".

Ann NY Acad Sci, 1965a; 127: 7.

DE HAAN RL:

"Morphogenesis in the vertebrate heart".

En: *Organogenesis*. Holt Rinehart and Winston Inc. New York, 1965b, pág. 377-419.

DE JONG F, GEERTS WJC, LAMERS WH, LOS JA, y MOORMAN AFM:

"Isomyosin expression pattern during formation of the tubular chicken heart: A three-dimensional immunohistochemical analysis".

Anat Rec, 1990; 226: 213-227.

DE LA CRUZ MV, CAMPILLO-SAINZ C, y MUÑOZ-ARMAS S:

"Congenital heart defects in chick embryos subjected to temperature variations".

Circ Res, 1966; 18: 257-262.

DE LA CRUZ MV, GIMENEZ-RIBOTTA M, SARAVALLI O, y COYRE R:

"The contribution of the inferior endocardial cushion of the atrioventricular canal to cardiac septation and to the development of the atrioventricular valves study in the chick embryo".

Am J Anat, 1983; 166: 63-72.

DE LA CRUZ MV, MUÑOZ-ARMAS S, y MUÑOZ-CASTELLANOS L:

"Development of the chick heart"

Baltimore/London: The John Hopkins University Press. 1972.

DE LA CRUZ MV, SANCHEZ-GOMEZ C, ARTEAGA M, y ARGUELLO C:
"Experimental study of the development of the truncus and the conus in the chick embryo".
J Anat, 1977; 123(3): 661-686.

DE LA CRUZ MV, SANCHEZ-GOMEZ C, y PANCOMINO M:
"The primitive cardiac regions in the straight tube heart (stage 9-) and their anatomical expression in the mature heart: an experimental study in the chick embryo".
J Anat, 1989; 165: 121-131.

DE VRIES PA, y SAUNDERS JB:
"Development of the ventricles and spiral outflow tract in the human heart".
En: *Carnegie Institution of Washington: III. Contribution to Embryology*. Washington, 1962, vol. 37, pág. 87.

DOMENECH JM:
"Análisis experimental de la morfogénesis de la doble salida de ventrículo derecho en el embrión de pollo (*Gallus domesticus*)".

DOMENECH JM, y REIG-VILLALONGA J:
"Defectos de tabicación interventricular y doble salida de ventrículo derecho producidos experimentalmente en embrión de pollo. Análisis causal".
Rev Esp Cardiol, 1980; 33(2): 147-156.

DOR X:
"Etude des torsions distales de l'ébauche cardiaque. Développement normal et malformations expérimentales réalisées chez l'embryon de poulet".
These présentée a L'U.E.R. de Nantes. Editions Medicales et Universitaires. Paris, 1976.

DOR X, y CORONE P:
"Role du conus dans la morphogénèse cardiaque. Essai d'étude sur l'embryon de poulet".
Coeur, 1973; 4: 207.

DOR X, y CORONE P:
"Experimental creation of univentricular heart in the chick embryo".
Herz, 1979; 4(2): 91-96.

DOR X, CORONE P, y CABROL C:
"Création expérimentale de ventricules uniques chez l'embryon de poulet. Etude au microscope électronique à balayage".
Coeur, 1978; 9(6): 1131-1155.

DRAKE CH J, y JACOBSON AG:

"A survey by scanning electron microscopy of the extracellular matrix and endothelial components of the primordial chick heart".
Anat Rec, 1988; 222: 391-400.

DUBAND JL, ROCHER S, CHEN W, YAMADA KM, y THIERY JP:

"Cell adhesion and migration in the early vertebrate embryo: location and possible role of the putative fibronectin receptor complex".
J Cell Biol, 1986; 102: 160-178.

EASTON H, VEINI M, y BELLAIRS R:

"Cardiac looping in the chick embryo: The role of the posterior precardiac mesoderm".
Anat Embryol, 1992; 185: 249-258.

ELIMBAN V, DHALLA KS, PANAGIA V, SINGAL PK, y DHALLA NS:

"A biphasic change in contractile proteins during the development of cardiac hypertrophy in pigs".
Basic Res Cardiol, 1987; 82: 1-8.

FABER JJ, GREEN TJ, y THORNBURG KJ:

"Embryonic stroke volume and cardiac output in the chick".
Dev Biol, 1974; 41: 14-21.

FACTOR SM, FLOMENBAUM M, ZHAO MJ, ENG C, y ROBINSON TF:

"The effects of acutely increased ventricular cavity pressure on intrinsic myocardial connective tissue".
J Am Coll Cardiol, 1988; 12: 1582-1589.

FACTOR SM, ROBINSON TF, DOMINITZ R, y CHO S:

"Alterations of the myocardial skeletal framework in acute myocardial infarction with and without ventricular rupture".
Am J Cardiovasc Pathol, 1986; 1: 91-97.

FISHMAN N, HOF RB, RUDOLPH AM, y HEYMANN MA:

"Models of congenital heart disease in fetal lambs".
Circulation, 1978; 58: 345-364.

FITZHARRIS TP, y MARKWALD RR:

"Cellular migration through the cardiac jelly matrix: A stereoanalysis by high voltage electron microscopy".
Dev Biol, 1982; 92: 315-329.

FOLKMAN J:

"Commentary. Regulation of angiogenesis: A new function of heparin".
Biochem Pharmacol, 1985; 34 (7): 905-909.

FOK RY, PAVLOVA Z, BENIRSCHKE K, PAUL RH, y PLATT LD:

"The correlation of arterial lesions with umbilical artery doppler velocimetry in the placentas of small-for-dates pregnancies".

Obstet Gynecol, 1990; 75: 578-583.

FRANSEN ME, y LEMANSKI LF:

"Epicardial development in the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*".

Anat Rec, 1990; 226: 228-236.

FRENCH-CONSTANT CH, Y HYNES RO:

"Patterns of fibronectin gene expression and splicing during cell migration in chicken embryos".

Development, 1988; 104: 369-382.

FRIEDMAN WF, y CHILD JS:

"Enfermedades del aparato cardiovascular. 186 Cardiopatías congénitas en el adulto".

En: *Harrison. Principios de Medicina Interna*, editado por J.D. Wilson, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, R.G. Petersdorf, J.B. Martin, A.S. Fauci y R.K. Root. Interamericana-McGraw-Hill, 12ª ed., 1991, Vol.I, pág. 1073.

GARCIA-PELAEZ I, DIAZ-GONGORA G, y ARTEAGA-MARTINEZ M:

"Contribution of the superior atrioventricular cushion to the left ventricular infundibulum".

Acta Anat, 1984; 118: 224-230.

GESSNER IH:

"Spectrum of congenital cardiac anomalies produced in chick embryos by mechanical interference with cardiogenesis".

Circ Res, 1966; 18(6): 625-633.

GESSNER IH:

"Cardiovascular anomalies resulting from manipulating the truncocoanal region of the early chick embryo heart".

En: *Birth Defects: Original Article Series*. The National Foundation, 1978, vol XIV, 7: 405-422.

GESSNER IH, y VAN MIEROP LHS:

"Experimental production of cardiac defects: the spectrum of dextroposition of the aorta".

Am J Cardiol, 1970; 25: 272-278.

GHOSH A, WOO JS, MACHENRY C:

"Fetal loss from umbilical cord abnormalities: a difficult case for prevention".

Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1984; 18: 183-198.

GILANI SH, y JAFFEE OC:

"Congenital cardiovascular anomalies in chick embryos exposed to X-irradiation and hypothermia".

Am J Obstet Gynecol, 1971; 111: 47-52.

GILANI SH, y SILVESTRI A:

"The effect of propranolol upon chick embryo cardiogenesis".

Exp Cell Biol, 1977; 45: 158-166.

GILBERT EF, BRUYERE HJ, ISHIKAWA S, FOULKE LM, y HEIMANN SR:

"Role of decrease cardiac output in isoproterenol-induced cardiovascular teratogenesis in chick embryos".

Teratology, 1980; 21: 299-307.

GIRARD H:

"Arterial pressure in the chick embryo".

Am J Physiol, 1973; 224:2.

GNIRS J, HENDRIKS J, HEBERLING D:

"Vascular abnormalities of the umbilical cord: incidence, significance and possibility for prenatal ultrasonic detection".

Geburtshilfe Frauenheilkd, 1988; 48: 355-360.

GOODWIN JF:

"The frontiers of cardiomyopathy".

Br Heart J, 1982; 48: 1-18.

GOOR DA, DISCHE R, y LILLEHEI CW:

"The conotruncus. I: Its normal inversion and conus absorption".

Circulation, 1972; 46: 375-384.

GRABOWSKI CT, y PAAR JA:

"The teratogenic effects of graded doses of hypoxia on the chick embryo".

Am J Anat, 1958; 103: 313-347.

GRANT RP:

"The morphogenesis of transposition of the great arteries".

Circulation, 1962; 26: 819.

GRATECOS D, NAIDET C, ASTIER M, THIERY JP, y SEMERIVA M:

"Drosophila fibronectin: A protein that shares properties similar to those of its mammalian homologue".

EMBO J, 1988; 7: 215-223.

GROHMANN D:

"Mitotische wachstumintesitar des embryonalen und fetal en hunchenherzens und ihre bedeutung fur entstehung von herzmisbildung".

Z Zellforsch, 1961; 55: 104-122.

GROSSMAN W, JONES D, y McLaurin LP:

"Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle".

J Clin Invest, 1975; 56: 56-64.

GUYTON AC:

Tratado de fisiología Médica.

6ª Edición. España/Brasil/Colombia/Ecuador/Venezuela: Ed. Interamericana, 1984.

HAMBURGER V, y HAMILTON HL:

"A series of normal stages in the development of the chick embryo".

J Morphol, 1951; 88: 49-92.

HAMILTON HL:

"Lillie's development of the chick".

3rd ed New York: Holt Rinehart and Winston Inc., 1952.

HAMRELL BB, y ALPERT NR:

"Cellular basis of the mechanical properties of hypertrophied myocardium".

En: *The Heart and cardiovascular System*, editado por H.A. Fozzard, E. Haber, R.B. Jennings, A.M. Katz, y H.E. Morgan. New York: Raven, 1986, pág. 1507-1524.

HARH JY, y PAUL MH:

"Experimental cardiac morphogenesis. I. Development of the ventricular septum in the chick".

J Embryol exp Morphol, 1975; 33(1): 13-28.

HARH JY, PAUL MH, GALLEN WJ, FRIEDBERG DZ, y KAPLAN S:

"Experimental production of hypoplastic left heart syndrome in the chick embryo".

Am J Cardiol, 1973; 31: 51-56.

HAY DA, y LOW FN:

"The fusion of dorsal and ventral endocardial cushion in the embryonic chick heart: a study in fine structure".

Am J Anat, 1972; 133: 1-24.

HAY DA, y MARKWALD RR:

"Localization of fucose-containing substances in developing atrioventricular cushion tissue".

En: *Perspectives in Cardiovascular Research. 5. Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*, editado por T. Pexieder. Raven Press, New York, 1981, pág. 197-211.

HEASMAN J, HYNES RO, SWAN AP, THOMAS V, y WYLIE CC:

"Primordial germ cells of *Xenopus* embryos: The role of fibronectin in their adhesion during migration".

Cell, 1981; 27: 437-447.

HEIFETZ SA:

"Single umbilical artery: a statistical analysis of 237 autopsy cases and review of the literature".

Perspect Pediatr Pathol, 1984; 119: 1269-1273.

HENDRIX MJC:

"Localization of collagen types in the embryonic heart using immunohistochemistry".

En: *Perspectives in Cardiovascular Research. 5. Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*, editado por T. Pexieder. Raven Press, New York, 1981, pág. 213-225.

HENDRIX MJC, BRAILEY JL, BROWN BJ, y SORRENTINO JM:

"The development of the atrial septum in absence of the hemodynamic pressure".

Anat Rec, 1983; 205: 80a.

HIRAKOW R:

"Development of the cardiac blood vessels in staged human embryos".

Acta Anat, 1983; 115: 220-230.

HIRAKOW R:

"Development of the vertebrate heart and the extracellular matrix".

Cong Anom, 1986; 26: 205-212.

HIROTA A, SAKAI T, FUJII S, y KAMINO K:

"Initial development of conduction pattern of spontaneous action potential in early embryonic precontractile chick heart".

Dev Biol, 1983; 99: 517-523.

HIRUMA T, y HIRAKOW R:

"Epicardial formation in embryonic chick heart: computer-aided reconstruction, scanning, and transmission electron microscopic studies".

Am J Anat, 1989; 184: 129-138.

HONDA M, MORIOKA S, YAMADA S, OHOKA M, TANABE K, MATSUNO Y, MURAKAMI Y, KOBAYASHI S, ISHINAGA Y, y MORIYAMA K:

"Study of cardiac hypertrophy -Humoral factors that stimulate protein metabolism of cultured rat heart cells-".

Japan Circ J, July 1989; 53: 795-806.

HORT W:

"Cardiac dilatation-Morphological aspects".

En: *Cardiac Dilation. Pathogenesis, Morphology, Hemodynamic and Energetic Consequences*, editado por R. Jacob, L. Seipel y I.H. Zucker. Stuttgart, New York: Fischer, 1990, pág. 3-17.

HU N, y CLARK EB:

"Hemodynamics of the stage 12 to stage 29 chicki embryo".

Circ Res, 1989; 65: 1665-1670.

HU N, CONNUCK D, KELLER BB, y CLARK EB:

"Diastolic filling characteristics in the stage 12 to 27 chick embryo ventricle".

Pediatric Res, 1991; 29 (4): 334-337.

HURLE JM:

"Scanning and light microscope studies of the development of the chick embryo semilunar heart valves".

Anat Embryol, 1979; 157: 69-80.

HURLE JM, y COLVEE E:

"Changes in the endothelial morphology of the developing semilunar heart valves. A TEM and SEM study in the chick".

Anat Embryol, 1983; 167: 67-83.

HURLE JM, ICARDO JM, y OJEDA JL:

"Compositional and structural heterogenicity of the cardiac jelly of the chick embryo tubular heart: a TEM, SEM and histochemical study".

J Embryol exp Morphol, 1980; 56: 211-223.

HURLE JM, y OJEDA JL:

"Cell death during the development of the truncus and conus of the chick embryo heart".

J Anat, 1979; 129: 427-439.

ICARDO JM:

"The growing heart: an anatomical perspective".

En: *Growth of the heart in health and disease*, editado por R. Zak. Raven Press. New York, 1984, pág. 41-80.

ICARDO JM:

"Cardiac morphogenesis and development".
Experientia, 1988; 44 (11-12): 909-919

ICARDO JM:

"Endocardial cell arrangement: role of hemodynamics".
Anat Rec, 1989a; 225: 150-155.

ICARDO JM:

"Changes in endocardial cell morphology during development of the endocardial cushions".
Anat Embryol, 1989b; 179: 443-448.

ICARDO JM, y FERNANDEZ-TERAN MA:

"Morphologic study of ventricular trabeculation in the embryonic chick heart".
Acta Anat, 1987; 130: 264-274.

ICARDO JM, FERNANDEZ-TERAN MA, y OJEDA JL:

"Late heart embryology. The making of an organ".
En: *Handbook of Human Growth and Developmental Biology*, editado por E. Meisami y P. Timiras. CRC Press, Florida, 1990, pág. 25-49.

ICARDO JL, y MANASEK FJ:

"Fibronectin distribution during early chick embryo heart distribution".
Dev Biol, 1983b; 95: 19-30.

ICARDO JM, y MANASEK FJ:

"An indirect immunofluorescence study of the distribution of fibronectin during the formation of the cushion tissue mesenchyme in the embryonic heart".
Dev Biol, 1984; 101: 336-345.

ICARDO JM, y MANASEK FJ:

"Cardiogenesis: Development mechanisms and embryology".
En: *The Heart and Cardiovascular System*, 2ª edición, editado por H.A. Fozzard y col. Raven Press, New York, 1992.

ICARDO JM, NAKAMURA A, FERNANDEZ-TERAN MA, y MANASEK FJ:

"Effects of injecting fibronectin and antifibronectin antibodies on cushion mesenchyme formation in the chick. An in vivo study".
Anat Embryol, 1992; 185: 239-247.

ITASAKI N, NAKAMURA H, y YASUDA M:

"Changes in the arrangement of actin bundles during heart looping in the chick embryo".
Anat Embryol, 1989; 180: 413-420.

ICARDO JM, OJEDA JL, y HURLE JM:

"Endocardial cell polarity during the looping of the heart in the chick embryo".
Dev Biol, 1982; 90: 203-209.

ICARDO JL, OJEDA JL, y HURLE JM:

"A quantitative study of the position of the Golgi apparatus in the developing chick myocardium. Effects of colchicine administration".
Acta Anat, 1983a; 117: 152-164.

JACOB R, DIERBERGER B, GULCH RW, MALL G, VOELKER W, y KARSCH KR:

"Significance of myocardial and geometric factors for ventricular dynamics. Analysis demonstrated on the example of idiopathic dilative cardiomyopathy".

En: *Cardiac Dilation. Pathogenesis, Morphology, Hemodynamic and Energetic Consequences*, editado por R. Jacob, L. Seipel y I.H. Zucker. Stuttgart, New York: Fischer, 1990, pág. 99-108.

JAFFEE OC:

"Hemodynamics and cardiogenesis. I. The effects of altered vascular patterns on cardiac development".
J Morphol, 1962; 110: 217-225.

JAFFEE OC:

"Bloodstreams and the formation of the interatrial septum in the anuran heart".
Anat Rec, 1963a; 147: 355-357.

JAFFEE O C:

"Blood flow and cardiac development. The venous heart".
IV Meeting anual de la Sociedad Teratológica, Harriman, New York, 1964.

JAFFEE OC:

"Hemodynamic factors in the development of the chick embryo heart".
Anat Rec, 1965; 151: 69-76.

JAFFEE OC:

"Rheological aspects of the development of blood flow patterns in the chick embryo heart".
Biorheology, 1966a; 3: 59-62.

JAFFEE OC:

"The development of the arterial outflow tract in the chick embryo heart".
Anat Rec, 1967; 158: 35-42.

JAFFEE OC:

"Effects of hypoxia upon cardiac development".
Anat Rec, 1971; 169 (2): 346.

JAFFEE OC:

"Physiological factors in the genesis of cardiovascular malformations".
Anat Rec, 1976; 184: 572-573.

JAFFEE OC:

"Hemodynamics and cardiogenesis: the effects of physiologic factors on cardiac development".
En : *Birth Defects: Original Article Series*. The National Foundation, 1978, vol XIV, 7: 393-404.

JAFFEE OC:

"Mechanisms and Pathogenesis".
En: *Handbook of Teratology*. New York/London: Plenum Press, 1979; pág. 343-363.

JOHNSON RC, MANASEK FJ, VINSON WC, y SEYER JM:

"The biochemical and ultrastructural demonstration of collagen during early heart development".
Dev Biol, 1974; 36: 252-271.

KASPRZAK A, y GERBER J:

"Varicose dilation of the umbilical vein and its significance for the fate of the fetus".
Wiad Lek, 1967; 20: 259-263.

KELLER BB, HU N, SERRINO PJ, y CLARK EB:

"Ventricular pressure-area loop characteristics in the stage 16 to 24 chick embryo".
Circ Res, 1991; 68: 226-231.

KINSELLA MG, y FITZHARRIS TP:

"Origin of cushion tissue in the developing chick heart: cinematographic recordings of in situ formation".
Science, 1980; 207: 1359-1360.

KINSELLA MG, y FITZHARRIS TP:

"Control of cell migration in atrioventricular pads during chick early heart development: Analysis of cushion tissue migration in vitro".
Dev Biol, 1982; 91: 1-10.

KIRBY ML, y BOCKMAN DE:

"Neural crest and normal development: a new perspective".
Anat Rec, 1984; 209: 1-6.

KIRBY ML, GALE TF, y STEWART DE:

"Neural crest cells contribute to normal aorticopulmonary septation".

Science, 1983; 220: 1059-1061.

KIRBY ML, TURNAGE KL, y HAYS BM:

"Characterization of conotruncal malformations following ablation of cardiac neural crest".

Anat Rec, 1985; 213: 87-93.

KITTEN GT, MARKWALD RR, y BOLENDER DL:

"Distribution of basement membrane antigens in cryopreserved early embryonic hearts".

Anat Rec, 1987; 217: 379-390.

KONSTANTINOVA B:

"Malformations of the umbilical cord".

Acta Genet Med Gemellol, 1977; 26: 259-266.

KOSHER RA, y SOLURSH M:

"Widespread distribution of type II collagen during embryonic chick development".

Dev Biol, 1989; 131: 558-566.

KRAMER TC:

"The partitioning of the truncus and conus and the formation of the membranous portion of the interventricular septum in the human heart".

Am J Anat, 1942; 71: 343-370.

KROTOSKI DM, DOMINGO C, y BRONNER-FRASER M:

"Distribution of a putative cell surface receptor for fibronectin and laminin in the avian embryo".

J Cell Biol, 1986; 103: 1061-1071.

KRUG EL, RUNYAN RB, y MARKWALD RR:

"Protein extracts from early embryonic hearts initiate cardiac endothelial cytodifferentiation".

Dev Biol, 1985; 112: 414-426.

KRUG EL, MJAATVEDT CH, y MARKWALD RR:

"Extracellular matrix from embryonic myocardium elicits an early morphogenetic event in cardiac adothelial differentiation".

Dev Biol, 1987; 120: 348-355.

KUHLMANN RS, KOLESARI GL, y KALBFLEISCH JH:

"Reduction of catecholamine-induced cardiovascular malformations in the chick embryo with metoprolol".

Teratology, 1983; 28: 9-14.

KURKINEN M, ALITALO K, VAHERI A, STENMAN S, y SAXEN L:
"Fibronectin in the development of embryonic chick eye".
Dev Biol, 1979; 69: 589-600.

LAANE HM:

"The arterial pole of the embryonic heart".
Swets & Zeitlinger BV. Amsterdam and Lisse, 1978.

LE DOUARIN NM:

"Etude en microscope électronique de la structure du mésenchyme précardiaque et des cellules du tube cardiaque avant le stade de la formation des myofibrilles".
C hebdomadaire Séances Académie des Sciences, 1965; 260: 973-976.

LE DOUARIN NM:

"The neural crest".
Cambridge U.P. London. 1982.

LE DOUARIN NM, DIETERLEN-LIEVRE F, y OLIVER PD:

"Ontogeny of primary lymphoid organs and lymphoid stem cells".
Am J Anat, 1984; 170: 261-299.

LEINZINGER E:

"Varix thrombosis of the umbilical cord".
Z Geburtshilfe Perinatol, 1969; 171: 82-87.

LEIVO I, VAHERI A, TIMPL R, y WARTIOVAARA J:

"Appearance and distribution of collagens and laminin in the early mouse embryo".
Dev Biol, 1980; 76: 100-114.

LEV M, y VASS A:

"Spitzer's architecture of normal and malformed hearts",
editado por Charles C Thomas. Springfield, Illinois. 1951.

LINASK KK, y LASH JW:

"Precardiac cell migration: Fibronectin localization at mesoderm-endoderm interface during directional movement".
Dev Biol, 1986; 114: 87-101.

LOS JA, y DRUKKER J:

"A light-microscopical study of the process of fusion of the endocardial atrioventricular cushion in the chicken embryo".
87th Meeting Anat Assoc, Leiden, Holand. 1969.

LOS JA, y VAN EIJNDTHOVEN E:

"The fusion of the endocardial cushions in the heart of the chick embryo. A light-microscopical and electron- microscopical study".

Z Anat Entwickl-gesch, 1973; 141: 55-75.

LOW FN:

"Extracellular connective tissue fibrils in the chick embryo".

Anat Rec, 1968; 160: 93-108.

MANASEK FJ:

"Embryonic development of the heart. I. A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo".

J Morphol, 1968; 125: 329-366.

MANASEK FJ:

"Embryonic development of the heart. II. Formation of the epicardium".

J Embryol exp Morphol, 1969a; 22(3): 333-348.

MANASEK FJ:

"Myocardial cell death in the embryonic chick ventricle".

J Embryol exp Morphol, 1969b; 21 (2): 271-284.

MANASEK FJ:

"Sulfated extracellular matrix production in the embryonic heart and adjacent tissues".

J Exp Zool, 1970a; 174: 415-440.

MANASEK FJ:

"Histogenesis of the embryonic myocardium".

Am J Cardiol, 1970b; 25: 149-168.

MANASEK FJ:

"The ultrastructure of embryonic myocardial blood vessels".

Dev Biol, 1971; 26: 42-54.

MANASEK FJ:

"The extracellular matrix of the early embryonic heart".

En: *Developmental and Physiological Correlates of Cardiac Muscle*, editado por M. Lieberman y T. Sano. Raven Press, New York, 1975a, pág. 1-20.

MANASEK FJ:

"The extracellular matrix: A dynamic component of the developing embryo".

Cu Top Develop Biol, 1975b; 10: 35-102.

MANASEK FJ:

"Heart development: interactions involved in cardiac morphogenesis".

En: *The cell surface in animal embryogenesis and development*, editado por G. Paste y G.L. Nicolson. North Holland, Amsterdam, 1976, vol I, pág. 545-598.

MANASEK FJ:

"Determinants of heart shape in early embryos".

Federation Proc, 1981; 40: 2011-2016.

MANASEK FJ, KULIKOWSKI RR, NAKAMURA A, NEUYENPHUC Q, y LACKTIS JW:

"Early heart development: A new model of cardiac morphogenesis".

En: *Growth of the heart in health and disease*, editado por R. Zak. New York: Raven Press, 1984, pág. 105-130.

MANASEK FJ, y MONROE RG:

"Early cardiac morphogenesis is independent of function".

Dev Biol, 1972; 27: 584-588.

MANASEK FJ, y NAKAMURA A:

"Forces and deformations: their origins and regulation in early development".

En: *Cardiac Morphogenesis*. New York: Ed Elsevier Science Publishing Co Inc, 1985, pág. 126-133.

MANASEK FJ, ICARDO JM, NAKAMURA A, y SWEENEY LJ:

"Cardiogenesis: Developmental mechanisms and embryology".

En: *The Heart and Cardiovascular System*, editado por H.A. Fozzard, E. Haber, R.B. Jennings, A.M. Katz, y H.E. Morgan. Raven Press, New York, 1986, pág. 965-986.

MANHOFF L, y JOHNSON M:

"The production of cardiovascular anomalies by electrocoagulation in chick embryos".

Am J Pathol, 1951; 27: 751.

MANNING A, y MC LACHLAN:

"Looping of chick embryo hearts in vitro".

J Anat, 1990; 168: 257-263.

MARKWALD RR:

"The role of extracellular matrix in cardiogenesis".

Tex Rep Biol Med, 1979; 39: 249-333.

MARKWALD RR, FITZHARRIS TP, y ADAMS-SMITH WN:

"Structural analysis of endocardial cytodifferentiation".

Dev Biol, 1975; 42: 160-180.

MARKWALD RR, FITZHARRIS TP, y MANASEK FJ:
"Structural development of endocardial cushions".
Am J Anat, 1977; 148: 85-120.

MARKWALD RR, FITZHARRIS TP, BANK H, y BERNANKE DH:
"Structural analysis on the matrical organization of glycosaminoglycans in developing endocardial cushions".
Dev Biol, 1978; 62: 292-316.

MARKWALD RR, FITZHARRIS TP, BOLENDER DL, y BERNANKE DH:
"Structural matrix of cell: Matrix interaction during morphogenesis of atrioventricular cushion tissue".
Dev Biol, 1979a; 69: 634-654.

MARKWALD RR, FUNDERBERG FM, y BERNANKE DH:
"Glycosaminoglycans: Potential determinants in cardiac morphogenesis".
Tex Rep Biol Med, 1979b; 39: 253-270.

MARON BJ, BONOW RO, y CANNON RO:
"Hypertrophic cardiomyopathy: interrelations of clinical manifestations, pathophysiology and therapy".
N Engl J Med, 1987; 316: 780-789.

MAYER BW, y PACKARD DS:
"A study of the expansion of the chick area vasculosa".
Dev Biol, 1978; 63: 335-351.

MEIER GEA:
"Viscous flow in the embryonic heart geometry".
Embryologische Hefte, 1987; 1: 1-20.

MJAATVEDT CH, LEPERA RC, y MARKWALD RR:
"Myocardial specificity for initiating endothelial-mesenchymal cell transition in embryonic chick heart correlates with a particulate distribution of fibronectin".
Dev Biol, 1987; 119: 59-67.

MONIE IW:
"Umbilical vein entering the right atrium: comment on a previously reported case".
Teratology, 1971; 4: 461-464.

MORSE DE:
"Formation of foramina secunda in the chick".
En: *Perspectives in Cardiovascular Research. Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*. New York : Raven Press, 1981, pág. 139-149.

MORSE DE, HAMLETT WC, y NOBLE ChW:

"Morphogenesis of chordae tendinae: I. Scanning electron microscopy".

Anat Rec, 1984a; 210: 629-638.

MORSE DE, ROGERS CS, y McCANN PS:

"Atrial septation in the chick and rat. A Review".

J Submicrosc Cytol, 1984b; 16: 259-272.

MURILLO FERROL NL:

"Obtención de macroftalmías tras la interrupción de los vasos vitelinos derechos. Estudio experimental en el embrión de pollo".

Trabajos de investigación. Becas de la Facultad de Medicina de Madrid, 1965; pág. 331-341.

NAKAMURA A, y MANASEK FJ:

"Experimental studies of the shape and structure of isolated cardiac jelly".

J Embryol exp Morphol, 1978a; 43: 167-183.

NAKAMURA A, y MANASEK FJ:

"Cardiac jelly fibrils: Their distribution and organization".

En: *Morphogenesis and Malformation of the Cardiovascular System*, editado por G.C. Rosenquist y D. Bergsma. Alan R. Liss, New York, 1978b, pág. 229-250.

NAKAMURA A:

"Cardiac hyaluronidase activity of chick embryos at the time of endocardial cushion formation".

Cell Cardiol, 1980; 12: 1239-1247.

NEWGREEN D, y THIERY JP:

"Fibronectin in early avian embryos: Synthesis and distribution along the migration pathways of neural crest cells".

Cell Tissue Res, 1980; 211: 269-291.

NODEN DM, y LAHUNTA A:

Embriología de los animales domésticos. Mecanismos de desarrollo y malformaciones. Ed. ACRIBIA, S.A. Zaragoza (España), 1990, pág. 27-51.

OJEDA JL, y HURLE JM:

"Cell death during the formation of tubular heart of the chick embryo".

J Embryol exp Morphol, 1975; 33(3): 523-534.

OJEDA JL, y HURLE JM:

"Cell death during the formation of the tubular heart of the chick embryo".

J Embryol Exp Morphol, 1985; 33: 523-534.

OLIVO OM, y SLAVICH E:

"Ricerche sulla velocita dell' accrescimento delle cellule e degli organi".

Arch Entwicklungsmech, 1930; 121: 96-110.

ORKIN RW, y TOOLE BP:

"Hyaluronidase activity and hyaluronate content of the developing chick embryo heart".

Dev Biol, 1978; 66: 308-320.

ORTS-LLORCA F, GENIS-GALVEZ JM, y RUANO-GIL D:

"Malformations encéphaliques et microphthalmie gauche après section des vaisseaux vitellins gauches chez l'embryon de poulet".

Acta Anat, 1959; 38: 1-34.

ORTS-LLORCA F, y GONZALEZ-SANTANDER R:

"Estudio electromicroscópico de la primera aparición y desarrollo de los miofilamentos cardíacos (miofibrillo génesis) en el embrión de pollo".

Rev Esp Cardiol, 1969; 4: 537.

ORTS-LLORCA F, y JIMENEZ-COLLADO J:

"A radioautographic analysis of the prospective cardiac area in the chick blastoderm by means of labeled grafts".

Nilhelm Dour Arch Entwickl Mech, 1968; 160: 298-312.

ORTS-LLORCA F, y JIMENEZ-COLLADO J:

"The development of heterologous grafts labeled with Thymidine 3H in the cardiac area of the chick blastoderm".

Dev Biol, 1969; 19: 213-227.

ORTS-LLORCA F, PUERTA-FONOLLA AJ, y SOBRADO-PEREZ J:

"The morphogenesis of the ventricular flow pathways in man".

Arch Anat Hist Embr Norm Exp, 1980; 63: 5-16.

ORTS-LLORCA F, PUERTA-FONOLLA AJ, y SOBRADO-PEREZ J:

"Morphogenesis of the ventricular flow pathways in man (bulbus cordis and truncus arteriosus)".

En: *Perspectives in Cardiovascular Research. Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*. New York: Raven Press, 1981, vol 5, pág. 17-30.

ORTS-LLORCA F, PUERTA-FONOLLA AJ, y SOBRADO-PEREZ J:
"The formation, septation and fate of the truncus arteriosus in man".
J Anat, 1982; 134: 41-56.

ORTS-LLORCA F, y RUANO-GIL DR:
"A causal analysis of the heart curvatures in the chicken embryo".
Nilhelm Doux Arch Entwickl Mech, 1967; 158: 52-63.

ORTS-LLORCA F, y RUANO-GIL D:
"Curvature of the heart its first apperance and determination"
Acta Anat, 1970; 77: 454-468.

PASCHOUD N, y PEXIEDER T:
"Patterns of proliferation during the organogenetic phase of heart development".
En: *Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*, editado por T. Pexieder. Raven Press, New York, 1981, pág. 78-88.

PATTEN BM:
"The formation of the cardiac loop in the chick".
Am J Anat, 1922; 30(3): 373-397.

PATTEN BM:
"The development of the sinoventricular conduction system".
Univ Mich Med Bull, 1956; 22: 1-21.

PATTEN BM:
"The development of the heart".
En: *Pathology of the heart*, editado por S.E. Gould y Charles C. Thomas. Springfield, 1960.

PATTEN BM:
Foundations of Embryology. New York, McGraw-Hill Book Co., 1964, pág. 354.

PATTEN BM, KRAMER TC, y BARRY A:
"Valvular action in the embryonic chick heart by localized apposition of endocardial masses".
Anat Rec, 1948; 102: 299-311.

PEREZ DE MIGUELSANZ J:
"Análisis de los factores hemodinámicos en la morfogénesis cardíaca: Influencia del aumento de flujo".
Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, 1987.

PEREZ DE MIGUELSANZ J, BENITEZ MR, y PUERTA J:

"Alteración de los arcos aórticos en embriones de pollo como consecuencia de los factores hemodinámicos modificados".

Rev Esp Cardiol, 1988; 42: 394-398.

PERKOFF JK:

The Clinical Recognition of Congenital Heart Disease, 3.^a ed. Philadelphia, Saunders, 1987.

PEXIEDER T:

"Some quantitative aspects on the development of aortic arches in chick embryos between the 2nd and 8th day of incubation".

Fol Morphol, 1969a; 17 (2): 102-136.

PEXIEDER T:

"Blood pressure in the third and fourth aortic arch and morphogenetic influence of laminar blood streams in the development of the vascular system of the chick embryo".

Fol Morphol, 1969b; 17: 273-290.

PEXIEDER T:

"The tissue dynamics of heart morphogenesis. I. The phenomena of cell death".

Z Anat Entwickl-Gesch, 1972; 137: 241-284.

PEXIEDER T:

"Cell death in the morphogenesis and teratogenesis of the heart".

Embryol Cell Biol, 1975; 51 (fasc 3): 1-100.

PEXIEDER T:

"Effects de l'hémodynamique sur la morphologie de l'endocarde embryonnaire".

Bull Ass Anat, 1976; 60: 399-406.

PEXIEDER T:

"Development of the outflow tract of the embryonic heart".

En: *Birth Defects*. Original Article Series. The National Foundation, 1978, vol XIV, 7: 29-68.

PEXIEDER T:

"Changing scene in cardiac embryology".

Herz, 1979; 4 (2): 73.

PEXIEDER T, y CHRISTEN Y:

"Quantitative analysis of shape development in the chick embryo heart".

En: *Perspectives in Cardiovascular Research. Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*. New York: Raven Press, 1981, 5: 49-67.

PHILIPPE J:

"Fetal and funicular vascular anomalies: Identification with prenatal US".

Radiology, 1989; 173: 363-370.

POOLE TJ, y THIERY JP:

"Antibodies and a synthetic peptide that block cell-fibronectin adhesion arrest neural crest cell migration in vivo".

En: *Progress in Developmental Biology*, parte B, editado por H. Slavkin. New York: Alan R. Liss Inc., 1986, pág. 235-238.

PRICE MG:

"Molecular analysis of intermediate filament cytoskeleton: A putative load-bearing structure".

Am J Physiol, 1984; 15: H566-H572.

PUERTA AJ, BENITEZ MR, y PRADOS JC:

"Analysis of the haemodynamic factors: II. Influence of the increase of flow in the cardiovascular morphogenesis".

Europ Heart J, 1987; 8 (2): 437.

RAJALA GM, KOLESARI GL, KUHLMAN RS, y SCHNITZLER HJ:

"Ventricular blood pressure and cardiac output changes in epinephrine- and metoprolol-treated chick embryos".

Teratology, 1988; 39: 291-296.

RAJALA GM, KUHLMANN RS, y KOLESARI GL:

"Blood pressure changes in epinephrine-treated chick embryos".

Teratology, 1984a; 25: 69.

RAJALA GM, KUHLMANN RS, y KOLESARI GL:

"The role of dysrhythmic heart function during cardiovascular teratogenesis in epinephrine-treated chick embryos".

Teratology, 1984b, 30. 385-395.

RAJALA GM, KUHLMAN RS, y KOLESARI GL:

"Blood pressure changes in epinephrine-treated chick embryos".

Teratology, 1984a; 25: 69.

RAJALA GM, KUHLMAN RS, y KOLESARI GL:

"The role of dysrhythmic heart function during cardiovascular teratogenesis in epinephrine-treated chick embryos".
Teratology, 1984b; 30: 385-395.

RAKUSAN K, y POUPA O:

"Difference in capillary supply of hypertrophic and hyperplastic hearts".
Cardiologia, 1966; 49: 293-298.

RAKUSAN K:

"Cardiac growth, maturation and aging".
En: *Growth of the Heart in Health and Disease*, editado por R. Zak.
New York: Raven, 1984, pág. 131-164.

RAWLES ME:

"The heart-forming areas of the early chick blastoderm".
Physiol Zool, 1943; 16: 22-42.

RIBATTI D, RONCALI L, NICO B, BERTOSI M:

"Effects of hexogenous heparin on the vasculogenesis of the chorioallantoic membrane".
Acta Anat, 1987; 130: 257-263.

RICKLAN DE, COLLET TA, y LYNESS SK:

"Umbilical vein variations: review of the literature and a case report of a persistent right umbilical vein".
Teratology, 1988; 37: 95-100.

ROBINSON TF:

"Lateral connections between heart muscle cells as revealed by conventional and high voltage transmission electron microscopy".
Cell Tissue Res, 1980; 211: 353-359.

ROBINSON TF, COHEN-GOULD L, y FACTOR SM:

"Skeletal framework of mammalian heart muscle: arrangement of inter- and pericellular connective tissue structures".
Lab Invest, 1983; 49: 482-498.

ROBINSON TF, FACTOR SM, y SONNENBLICK EH:

"The heart as a suction pump".
Sci Am, 1986; 254: 84-91.

ROHR MS, y VAUPEL MR:

"Cardiac anomalies induced by alteration of venous flow into the developing heart of the chick embryo".
Teratology, 1975; 11: 31.

ROMANOFF AL:

"The heart".

En: *The avian embryo*. The McMillan Company. New York, 1960.

ROSENQUIST GC:

"Radioautographic study of labeled grafts in the chick blastoderm: Development from primitive streak stages to stage 12".

En: *Carnegie Institution of Washington: Contribution to Embryology*. Washington, 1966, vol. 38, pág. 71.

ROSENQUIST GC, y DE HAAN RL:

"Migration of precardiac cells in the chick embryo: a radioautographic study".

Contrib Embryol, 1966; 263: 111-121.

ROSENQUIST TH, McCOY JR, WALDO KL, y KIRBY ML:

"Origin and propagation of elastogenesis in the developing cardiovascular system".

Anat Rec, 1988; 221: 860-871.

ROVASIO RA, DELOUVEE A, YAMADA KM, TIMPL R, y THIERY JP:

"Neural crest cell migration: Requirements for exogenous fibronectin and high cell density".

J Cell Biol, 1983; 96: 462-473.

RUDNICK D:

"Teleosts and birds".

En: *Analysis of Development*, editado por B.H. Willier, P.A. Weiss, y V. Hamburger. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1955, pág. 287.

RUMYANTSEV PP:

"Interrelations of the proliferation and differentiation processes during cardiac myogenesis and regeneration".

Int Rev Cytol, 1977; 51: 189-273.

RUNYAN RB, KITTEN GT, y MARKWALD RR:

"Proteins of the embryonic extracellular matrix: Regional and temporal correlation with tissue interactions in the heart".

En: *Extracellular Matrix*, editado por S. Hawkes y J.L. Wang. Academic Press, New York, 1983a, pág. 153-157.

RUNYAN RB, y MARKWALD RR:

"Invasion of mesenchyme into three-dimensional collagen gels: A regional and temporal analysis of interaction in embryonic heart tissue".

Dev Biol, 1983b; 95:108-114.

RYCHTER Z:

"The vascular system of the chick embryo. III. On the problem of septation of the heart bulb and trunk in chick embryos".
Cesk Morfol, 1959; 7: 1-20.

RYCHTER Z:

"Experiental morphology of the aortic arches and the heart loop in chick embryos".
Adv Morphol, 1962; 2: 333-371.

RYCHTER Z:

"Analysis of relations between aortic arches and aorticopulmonary septation".
En: *Birth Defects*. Original Article Series. The National Foundation, 1978, vol XIV, 7: 443-448.

RYCHTER Z, KOPECKY M, y LEMEZ L:

"Krev kurecich zarodku. IV. Objem cirkulujici od 2.dne inkubace (25 somitu) do vylihnuti".
Cesk Morfol, 1955; 3: 11-25.

RYCHTER Z, y LEMEZ L:

"Cévní soustava zárodku kunete. II. Uvodnisdelení k pokusnému vyrázování aortálních oblouku 4.dne zárodecneho vyvoje (The vascular system of the chick embryo. II. Introductory communication to the experimental supression of aortic arches in 4 days chick embryo)".
Cs Morfol, 1957; 3: 237-254.

RYCHTER Z, y LEMEZ L:

"Pokusné vyrázování aortálních oblouků u zárodku kurete a jeho vztah k vzniku nekterych vrozenych vad srdecnich".
Acta Univ Carol Med, 1958; 1: 299-309.

RYCHTER Z, y LEMEZ L:

"Cévní soustava zárodku kurete. IV. Popisná morfogenesa pokusne vyvolanych defectu mezikomorové prepazky".
Cs Morfol, 1959; 7: 21-32.

RYCHTER Z, y LEMEZ L:

"Cévní soustava zárodku kurete. V. Vyroj a pokusná morfologie proximálního intersticiálního polstárku srdečního bulbu (The vascular system of the chick embryo. V. Development and experimental morphology of the proximal interstitial cushion of the heart bulb)".
Cs Morfol, 1960; 8: 32-34.

RYCHTER Z, y LEMEZ L:

"Cévní soustava zárodku kurete. XIII. Vliv některých pokusných zásahu navyvoj pomeru velikosti levého a pravého oka do 8.dne zárodečného vyvoje".

Cs Morfol, 1963; vol. XI, nº 4, pág. 328-336.

RYCHTER Z, y OSTADAL B:

"Fate of sinusoidal intertrabecular spaces of the cardiac wall after development of the coronary vascular bed in the chick embryo".

Folia Morphol, 1971; 19: 31-44.

RYCHTER Z, y RYCHTEROVA V:

"Angin and myoarchitecture of the heart wall under normal and experimentally changed morphogenesis".

En: *Perspectives in Cardiovascular Research. Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*. New York: Raven Press, 1981, vol. 5, pág. 431-452.

SANCHEZ-QUINTANA D, GARCIA-MARTINEZ V, MACIAS D y HURLE JM:

"Structural arrangement of the extracellular matrix network during myocardial development in the chick embryo heart".

Anat Embryol, 1991; 184: 451-460.

SATER AK, y JACOBSON AG:

"The specification of heart mesoderm occurs during gastrulation in *Xenopus laevis*".

Develop, 1989; 105: 821-830.

SATOW Y, OKAMOTO N, AKIMOTO N, HIDAKA N, MIYABARA S, y PEXIEDER T:

"Comparative and morphometric study on genetically programmed cell death in rat and chick embryonic heart".

En: *Mechanisms of Cardiac Morphogenesis and Teratogenesis*, editado por T. Pexieder. Raven Press. New York, 1981, pág. 115-126.

SAUNDERS JW:

"Death in embryonic system".

Science, 1966; 154: 604-612.

SCHAPER J, FROEDE R, HEIN St, BUCK A, HASHIZUME H, SPEISER B, FRIEDL A, y BLEESE N:

"Impairment of the myocardial ultrastructure and changes of the cytoskeleton in dilated cardiomyopathy".

Circ, 1991; 83: 504-514.

SCHUNEMANN K:

"Intercellular gaps in the early development of chick mural endocardium. A TEM study".

Anat Embryol, 1987; 175: 375-378.

SEIDL W, y STEDING G:

"Contribution to the development of the heart. Part III: The aortic arch complex. Normal development and morphogenesis of congenital malformation".

Thorac Cardiovasc Surgeon, 1981; 29 (6): 359-368.

SHIRAISHI I, TAKAMATSU T, MINAMIKAWA T, y FUJITA S:

"3-D observation of actin filaments during cardiac myofibrinogenesis in chick embryo using a confocal laser scanning microscope".

Anat embryol, 1992; 185: 401-408.

SISSMAN NJ:

"Cell multiplication rates during development of the primitive cardiac tube in the chick embryo".

Nature, 1966; 210: 504.

SISSMAN NJ:

"Developmental landmarks in cardiac morphogenesis: Comparative chronology".

Am J Cardiol, 1970; 25: 141-148.

SPITZER A:

Architecture of normal and malformed hearts: A phylogenetic theory of their development, editado por Ch.C. Thomas. Springfield, Illinois, 1951.

STALSBERG H:

"The origin of heart asymmetry: right and left contributions to the early chick embryo heart".

Dev Biol, 1969; 19: 109-127.

STEDING G, y SEIDL W:

"Contribution to the development of the heart. Part I: Normal development".

Thorac Cardiovasc Surg, 1980; 28: 386-409.

STEPHAN F:

"Consequences de la suppression de l'orifice venieux droit du coeur chez l'embryon de poulet".

Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie, 1955; 149: 1478-1479.

SUMIDA H, NAKAMURA H, y SATOW Y:

"Distribution of vitronectin in the embryonic chick heart during endocardial cell migration".

Arch Histol Cytol, 1990; 53 (1): 81-88.

SUMIDA H, NAKAMURA H, y SATOW Y:

Relation of the distribution of fibronectin to the obliteration of the arch artery in the chick".

Arch Histol Cytol, 1991; 54 (1): 89-94.

TABORDA LOPEZ L:

"Influencia de la disminución del flujo sanguíneo en la morfogénesis ventricular del corazón de embrión de pollo".

Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1990.

TAKAMURA K, OKISHIMA K, OHDO S, y HAYAKAWA K:

"Association of cephalic neural crest cells with cardiovascular development, particularly that of the semilunar valves".

Anat Embryol, 1990; 182: 263-272.

THOMPSON RP, y FITZHARRIS TP:

"Morphogenesis of the truncus arteriosus of the chick embryo heart: tissue reorganization during septation".

Am J Anat, 1979a; 156 (2): 251-264.

THOMPSON RP, y FITZHARRIS TP:

"Morphogenesis of the truncus arteriosus of the chick embryo heart: the formation and migration of mesenchymal tissue".

Am J Anat, 1979b; 154 (4): 545-556.

THOMPSON RP, y FITZHARRIS TP:

"Division of cardiac outflow".

En: *Cardiac Morphogenesis*, editado por J. Ferrans, G. Rosenquist y C. Weinstein. Elsevier Science. Publishing Co, Inc. New York, 1985, pág. 169-180.

THOMPSON RP, FITZHARRIS TP, DENSLOW S, y LEROY EC:

"Collagen synthesis in the developing chick heart".

Tex Rep Biol, 1979c; 39: 305-319.

TIDBALL JC:

"Distribution of collagens and fibronectin in the subepicardium during avian cardiac development".

Anat Embryol, 1992; 185: 155-162.

TOKUYASU KT:

"Development of myocardial circulation".

En: *Cardiac Morphogenesis*, editado por V.J. Ferrans, G.C. Rosenquist y C. Weinstein. Elsevier, New York, 1985, pág. 226-237.

VAN MIEROP LHS:

"Embryology of the atrioventricular canal region and pathogenesis of endocardial cushion defects".

En: *Atrioventricular Canal Defects*, editado por R.H. Feldt. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1976, pág. 1-12.

VAN MIEROP LHS:

"Embryology of the univentricular heart".

Herz, 1979; 4: 78-85.

VAN MIEROP LHS, y BERTUCH CJ:

"Development of arterial blood pressure in the chick embryo".

Am J Physiol, 1971; 212: 43-48

VIRAGH Sz, SZABO E, y CHALLICE CE:

"Formation of the primitive myo- and endocardial tubes in the chicken embryo".

J Mol Cell Cardiol, 1989; 21: 123-137.

VON DER MARK K:

"Localization of collagen types in tissues".

Int Rev Connect Tissue Res, 1981; 9: 265-324.

WAGMAN AJ, y CLARK EB:

"The Frank-Starling relationship in the embryo".

En: *Cardiac Morphogenesis*. New York: Elsevier Science Publishing Co Inc, 1985, pág. 245-252.

WEBER KT:

"Cardiac interstitium in health and disease: The fibrillar collagen network".

J Am Coll Cardiol, 1989; 13: 1637-1652.

WEBER KT, y BRILLA ChG:

"Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system".

Circ, 1991; 83: 1849-1865.

WEBER KT, CLARK WA, JANICKI JS, y SHROFF SG:

"Physiologic versus pathologic hypertrophy and thye pressure overloaded myocardium".

J Cardiovasc Pharmacol, 1987b; 10 (suppl 6): S37-49.

WEBER KT, JANICKI JS, y PICK R:
"Collagen in the hypertrophied pressure-overloaded myocardium".
Circ, 1987a; 75 (suppl I): 140-47.

WEBER KT, JANICKI JS, y PICK R:
"Disruption of collagen tethers: Anatomic basis of muscle fibers slippage in the myocardium".
En: *Cardiac Dilation. Pathogenesis, Morphology, Hemodynamic and Energetic Consequences*, editado por R. Jacob, L. Seipel y I.H. Zucker. Stuttgart, New York: Fischer, 1990, pág. 18-35.

WEBER KT, JANICKI JS, y SHROFF SG:
"Collagen compartment remodeling in the pressure overloaded left ventricle".
J Appl Cardiol, 1988; 1: 37-46.

WENINK ACG:
"Some details on the final stages of the heart septation in the human embryo".
Thesis. Leyden, 1971.

WENINK ACG:
"La formation du septum membranaceum dans le coeur humain".
Bull Assoc Anat, (Nancy), 1974; 58: 1127-1129.

WENINK ACG:
"Embryology of the ventricular septum. Separate origin of its components".
Virchow's Arch, 1981; 390: 71-79.

WENINK ACG, y GITTENBERGER-DE GROOT AC:
"The role of the atrioventricular endocardial cushions in the septation of the heart".
Int J Cardiol, 1985; 8: 25-44.

WENINK ACG, y ZEVALLOS J:
"Developmental aspects of atrioventricular septal defects".
Int J Cardiol, 1988; 18: 65-78.

WISPE J, HU N, y CLARK EB:
"Effect to environmental hypothermia on dorsal aortic blood flow in the chick embryo, stages 18 to 24".
Ped Res, 1983; 17: 945-948.

WOUTERLOOD FG:
"The shape, size and position of the upper and lower beaks in unilaterally microphthalmic chick embryos".
Acta Morphol Neerl-Scand, 1977; 15: 109-128.

WYNNE J, y BRAUNWALD E:

"Enfermedades del aparato cardiovascular. 192 Miocardiopatías y miocarditis".

En: *Harrison. Principios de Medicina Interna*, editado por J.D. Wilson, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, R.G. Petersdorf, J.B. Martin, A.S. Fauci y R.K. Root. Interamericana-McGraw-Hill, 12ª ed., 1991, Vol.I, pág. 1130-1135.

YOSHIDA H, MANASEK F, y ARCILLA RA:

"Intracardiac flow patterns in early embryonic life. A reexamination".

Circ Res, 1983; 53 (3): 363-371.

ZAK R, KIZU A, y BUGAISKY L:

"Cardiac hypertrophy: its characteristics as a growth in stage 21 chick embryos".

Am J Cardiol, 1979; 44: 941-947.